



**Universidad de Chile**  
**Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas**  
**Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química**  
**Ingeniería en Alimentos**

**PROFESOR PATROCINANTE**

Andrea Bungler T.

Departamento de Ciencia de los  
Alimentos y Tecnología Química.  
Universidad de Chile.

**DIRECTORES DE MEMORIA**

Andrea Bungler T.

Departamento de Ciencia de los  
Alimentos y Tecnología Química.  
Universidad de Chile.

Franco Pedreschi P.  
Departamento de Ingeniería  
Química y Bioprocesos.  
Pontificia Universidad Católica de  
Chile.

**INFLUENCIA DEL TIPO DE HARINA EN LA FORMACION DE NEO-  
CONTAMINANTES Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE PAN  
TIPO “MARRAQUETA”**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

**ROMINA FRANCISCA ESCOBAR TAPIA**

Santiago - Chile

2022

## INDICE

Indice.....	ii
Indice de tablas .....	iv
Indice de figuras.....	v
Resumen .....	vi
Abstract .....	vii
1. Introducción.....	1
1.1 Materias primas.....	3
1.1.1 El Trigo .....	3
1.1.2 Harina de trigo .....	5
1.1.3 Tipos de Harina de trigo panadero.....	9
1.1.4 Calidad industrial de la harina de trigo.....	10
1.1.5 Agua .....	11
1.1.6 Sal.....	12
1.1.7 Levadura.....	12
1.2 Pan.....	12
1.3 Neo-contaminantes .....	14
1.3.1 Acrilamida (AA).....	16
1.3.2 Hidroximetilfurfural .....	18
1.4 Contenido de neo-contaminantes en productos de panadería.....	20
2. Hipótesis.....	22
3. Objetivos .....	22
3.1. Objetivo General .....	22
3.2. Objetivos Específicos.....	22
4. Metodología.....	23
4.1 Obtención de las Harinas.....	23
4.2. Elaboración de las muestras .....	24
4.3 Determinación de neo-contaminantes.....	27
4.3.1 Determinación de AA en pan marraqueta.....	27
4.3.2 Determinación de HMF en pan marraqueta.....	28
4.4 Evaluación sensorial .....	29

4.4.1 Desarrollo de la evaluación.....	29
4.4.2 Análisis estadísticos.....	32
5. Resultados y discusión .....	33
5.1 Elaboración y formulación de las marraquetas .....	33
5.1.1 Composición y caracterización de las harinas .....	33
5.1.2 Desarrollo de las muestras. ....	35
5.3 Cuantificación de HMF .....	36
5.4 Cuantificación de AA .....	37
5.5 Evaluación Sensorial.....	39
5.5.1 Aceptabilidad por atributos .....	39
5.5.2 Justo Agrado.....	40
5.5.3 Preferencia y razones espontáneas de preferencia.....	46
5.6 Neo-contaminantes y su relación con las características sensoriales.....	48
6. Conclusiones.....	52
7. Bibliografía.....	53
8. Anexos .....	58

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición requerida para la harina de trigo.....	6
Tabla 2: Condiciones del equipo GC-MS para la cuantificación de AA.....	28
Tabla 3: Condiciones del equipo HPLC-DAD para la cuantificación de HMF.....	29
Tabla 4: Composición de los distintos tipos de harina.....	33
Tabla 5: Valores de las características reológicas de las harinas, recopilados de los alveogramas .....	34
Tabla 6: Clasificación de las harinas de acuerdo con su fuerza.....	34
Tabla 7: Formulaciones utilizadas en la elaboración de marraquetas.....	35
Tabla 8: Cuantificación de HMF para las muestras de marraqueta elaboradas con harina con distinto contenido proteico .....	36
Tabla 9: Cuantificación de AA para las muestras de marraqueta elaboradas con harina con distinto contenido proteico. ....	37
Tabla 10: Tabla resumen de los porcentajes obtenidos en los tramos agrupados en la escala de justo agrado .....	41
Tabla 11: Preferencia de los consumidores para cada una de las muestras de marraqueta.....	46
Tabla 12: Análisis de las respuestas espontáneas acerca de razones de preferencia .....	47
Tabla 13: Relación de atributos sensoriales con cantidad de neo-contaminantes	49

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la Asparagina (Lea et al, 2007).....	8
Figura 2. Vía general de la reacción de Maillard según Hodge (Zhang et al,2007)15	
Figura 3. Diagrama de bloques del proceso de elaboración de pan marraqueta. .	25
Figura 4. Bandeja de evaluación con consumidores .....	31
Figura 5. Desarrollo de la evaluación por parte de los consumidores. ....	31
Figura 6. Resumen de los resultados para los atributos de agrado .....	39
Figura 7. Evaluación de la intensidad de aroma de las marraquetas elaboradas con las distintas harinas. ....	43
Figura 8. Evaluación de la intensidad de color de la corteza de las marraquetas elaboradas con las distintas harinas .....	44
Figura 9. Evaluación de la dureza de la corteza de las marraquetas elaboradas con las distintas harinas. ....	45

## RESUMEN

La harina es el principal ingrediente del pan y contiene aminoácidos como la asparagina y algunos azúcares reductores. Durante el horneado del pan, estos compuestos dan lugar a la generación de neo-contaminantes como hidroximetilfurfural (HMF) y acrilamida (AA) a través de la reacción de Maillard. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del contenido de proteína de la harina de trigo sobre la formación de HMF y AA y las características sensoriales en pan tipo marraqueta.

Para elaborar las marraquetas se usaron Harina Hallulla (HH), Harina Super Pan (HSP) y Harina Super Pan 2 (HSP2), con un contenido proteico y fuerza panadera (W) correspondiente a 9,3% (W=229), 9,9% (W=233) y 10% (W=333), respectivamente.

EL contenido de HMF de las diferentes formulaciones de marraqueta fue: 25,5 mg/kg (HH); 15,6 mg/kg (HSP) y 19,1 mg/kg (HSP2). El contenido de AA de éstas fue: 96 ug/kg (HH), 56 ug/kg (HSP) y 95 ug/kg (HSP2). El menor contenido de ambos neo-contaminantes se obtuvo en la muestra de HSP. Esto probablemente, debido a que esta harina presentaba menores contenidos de azúcares totales y proteínas.

En las marraquetas elaboradas a partir de las muestras HSP y HSP2, se realizó un estudio con consumidores, debido a la diferencia en su composición proteica, fuerza panadera y niveles de neo-contaminantes. La muestra HSP presentó un color de corteza menos intenso y un mayor justo agrado para dureza de corteza. HSP2 presentó una mayor aceptación de forma y menor intensidad de aroma. No se obtuvieron diferencias significativas para preferencias ni aceptación general.

La muestra HSP presentó una aceptabilidad general similar a la muestra HSP2, además su uso logró mitigar un 42% de AA con respecto a HSP2 y un 39% de HMF con respecto a HH. Por lo tanto, el uso de harinas con un contenido intermedio de proteínas y bajo en azúcares totales, en condiciones controladas de horneado, permite mitigar la formación de neo-contaminantes sin afectar la aceptabilidad del producto final.

## ABSTRACT

### INFLUENCE OF FLOUR TYPE ON THE FORMATION OF NEO-CONTAMINANTS AND SENSORY CHARACTERISTICS OF "MARRAQUETA" TYPE BREAD

Flour is the main ingredient of bread and contains amino acids such as asparagine and some reducing sugars. During bread baking, these compounds give rise to the generation of neo-formed contaminants hydroxymethylfurfural (HMF) and acrylamide (AA) through the Maillard reaction. The objective of this work was to study the effect of wheat flour protein content on HMF and AA formation and sensory characteristics in marraqueta bread.

Hallulla Flour (HH), Super Pan Flour (HSP) and Super Pan 2 Flour (HSP2), with protein content and baking strength (W) corresponding to 9.3% (W=229), 9.9% (W=233) and 10% (W=333), respectively, were used to make the marraquetas.

The HMF content of the different marraqueta formulations was: 25,5 mg/kg (HH); 15,6 mg/kg (HSP) and 19,1 mg/kg (HSP2). The AA content of these was: 96 ug/kg (HH), 56 ug/kg (HSP) and 95 ug/kg (HSP2). The lowest content of both neo-formed contaminants was obtained in the HSP sample. This was probably due to the fact that this flour had lower contents of total sugars and proteins.

In the marraquetas made from the HSP and HSP2 samples, a consumer study was carried out, due to the difference in their protein composition, baking strength and levels of neo-formed contaminants. The HSP sample presented a less intense crust color and a higher fairness for crust hardness. HSP2 presented higher shape acceptance and lower aroma intensity. No significant differences were obtained for preference or overall acceptability.

The HSP sample presented a general acceptability similar to the HSP2 sample, and its use mitigated 42% of AA with respect to HSP2 and 39% of HMF with respect to HH. Therefore, the use of flours with an intermediate protein content and low in total sugars, under controlled baking conditions, allows mitigating the formation of neo-formed contaminants without affecting the acceptability of the final product.

## 1. INTRODUCCIÓN

El pan es un alimento importante y un recurso alimenticio básico en muchos países. Además, este alimento contiene material esencial como proteínas, carbohidratos, fibras y vitaminas que se reconocen como un importante recurso de energía y nutrientes. Por lo tanto, el pan ha afectado directamente en la salud humana (Norouzi et al, 2018).

Para los chilenos el pan se considera como uno de los productos básicos dentro de la canasta familiar de alimentos, y el consumo per cápita de éste bordea los 98kg/año, siendo Chile, el segundo consumidor mundial después de Turquía. Chile cuenta con alrededor de 5500 panaderías a nivel nacional de la producción total de pan, un 70% corresponde a marraqueta, 20% a hallulla y luego le siguen baguette y pan frica (FECHIPAN, 2019). Los alimentos consumidos mayormente por los chilenos pueden aportar cantidades considerables de neo-contaminantes como la acrilamida (AA) y el 5-hidroximetilfurfural (HMF) que se han clasificado como dañinos para los humanos (Pedreschi et al, 2018).

Durante la elaboración del pan, el proceso térmico de horneado es uno de los más críticos, ya que éste contribuye al desarrollo de distintos atributos sensoriales atractivos y únicos del alimento tales como color, aroma, sabor y textura. Estos atributos sensoriales son producidos principalmente durante la reacción de Maillard (Zhaof et al, 2017). Sin embargo, junto a estas propiedades deseadas para el alimento, se forman también compuestos no deseados, denominados neo-contaminantes, como son la AA y el HMF (Van Der Fels et al, 2014), los cuáles son potencialmente dañinos.

Para la elaboración del pan “marraqueta” se utilizan ingredientes tales como agua, harina de trigo, levadura, sal y azúcar. La harina principalmente es rica en varios precursores de HMF y AA. La harina contiene asparagina (aminoácido) y azúcares reductores, los cuales, como parte de la reacción de Maillard, reaccionan a altas temperaturas (> 120 °C) para formar la AA (CODEX, 2009).



Asimismo, el HMF es un derivado del furano e intermediario en la reacción de Maillard, el cual se forma cuando los carbohidratos se calientan ( $> 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) en presencia de aminoácidos o proteínas (Pedreschi et al, 2018).

Para controlar el contenido de estos neo-contaminantes el uso de las materias primas adecuadas, con bajos niveles de precursores; es primordial. El objetivo de este estudio fue determinar el contenido de la cantidad de AA e HMF y cualidades organolépticas de pan tipo marraqueta elaborado en base a harina de trigo con distintos porcentajes de proteína

## **1.1 Materias primas**

Las materias primas utilizadas para la elaboración del pan comúnmente son: harina, sal, agua y levaduras. La harina es el ingrediente principal, otorgando la mayor parte de los carbohidratos al producto, el segundo ingrediente más importante corresponde al agua, el cual es responsable de la hidratación de la harina y el desarrollo de la levadura; la sal, por otro lado, se encarga de darle sabor a la masa, regular la fermentación y ayudar a la retención de agua en la masa, finalmente la levadura, es la encargada del levantamiento de la masa a través de la fermentación de ella (Peña, 2017).

Los azúcares reductores se encuentran en gran cantidad en los granos de cereales, por lo que la concentración de asparagina libre es el factor más importante o limitante que afecta la formación de AA en los productos horneados. El contenido de asparagina varía entre los distintos tipos de cereales, encontrándose en el siguiente orden descendente: centeno>avena sin cáscara>maíz >cebada sin cáscara>trigo duro>trigo harinero (Žilić et al, 2020), esto debido a que los niveles de asparagina libre varían según el grano de centeno, con el nivel más bajo en el endospermo y el nivel más alto en el salvado (Zhang et al, 2009). Además, según estudios realizados anteriormente, se confirma que el contenido de asparagina en los cereales se ve afectado por distintos factores tales como, la variedad genética, las condiciones de crecimiento, el momento de la cosecha y las condiciones de almacenamiento postcosecha (Žilić et al, 2020).

### **1.1.1 El Trigo**

Los cereales son un ingrediente básico en la elaboración de pan y de otros productos horneados, así como de muchos productos de confitería, y por lo tanto presentan la principal fuente de energía y nutrientes para la mayoría de la población humana a nivel mundial (Žilić et al, 2020). El trigo es por mucho el cereal más importante en la elaboración de pan, aunque en algunas partes del mundo el uso de centeno es bastante considerable, otros cereales son usados en menor medida (Goesaert et al 2005).

El grano de trigo se compone de 7 capas, desde la más externa a la más interna, epidermis, epicarpio, endocarpio, testa, aleurona, germen y endospermo. Las primeras cinco capas proporcionan el salvado (15% – 25% peso del grano), la harina se obtiene principalmente del endospermo, el cual proporciona la energía y la proteína para la planta de trigo en desarrollo, se caracteriza por su alto contenido en almidón y moderadamente alto en proteínas. El color de la cuarta capa, testa, da origen a una nomenclatura de trigos muy frecuentemente utilizada en el comercio internacional. Así, existen trigos rojos (red), amarillos (yellow) y blancos (white) (Fálder, 2002). Los trigos también se clasifican por su ciclo biológico, es decir, el hábito de crecimiento del trigo (primavera, invierno) y dureza del grano (duros, blado) (Finnie & Atwell, 2017).

Actualmente para la elaboración de harina de trigo, son 3 las especies más comúnmente cultivadas, la primera especie *triticum aestivum*, el cual incluye a los tipos de trigo duro rojo de invierno (HRW), trigo duro rojo de primavera (HRS), trigo blando rojo de invierno (SRW), trigo duro blanco (HW) y trigo blando blanco (SW); la segunda especie *T. compactum*, denominado trigo club o trigo racimoso, y la tercera especie *T. durum*, que incluye las clases de trigo duro y trigo duro rojo (Finnie & Atwell, 2017). Estados Unidos es el cuarto país productor de trigo en el mundo, (tras la UE, China e India) y su producción se distribuye de la siguiente manera: HRW (51%), HRS (21%), SRW (12%), Trigo blanco (10%) y Trigo duro (6%) (Fálder, 2002). La harina producida en base a los tipos de trigo HRW, HW y HRS se usan generalmente en la producción de pan y productos en base a masas con levaduras, debido que, al usar este tipo de trigo, se otorga a las masas la capacidad para retener gases leudantes y producir la estructura necesaria para la elaboración del pan (Finnie & Atwell, 2017).

En Chile las dos especies de trigo del género *Triticum* más comunes son *triticum aestivum*, utilizado principalmente en la elaboración de harinas destinadas a la producción de pan, y *triticum durum*, utilizado en la elaboración de pastas secas. Dependiendo de la cantidad de gluten que tenga el grano, el trigo panadero se subdivide en fuerte, intermedio y suave (débil). Se considera trigo panadero fuerte al que posee un porcentaje de gluten igual o superior a 30%, intermedio a aquel que tiene entre un 25% a 29%, y suave aquel que tiene menos de un 25% de estas proteínas. Más de un 90% del trigo producido en Chile corresponde a trigo panadero, sin embargo, la producción nacional es insuficiente para suplir la demanda interna, por lo que se importa el grano para suplir esa deficiencia, debido a esto, la molienda utiliza trigos nacionales e importados para la producción de los diferentes tipos de harina; sin embargo, los molinos de la zona sur del país se abastecen principalmente con trigo nacional. Entre los años 2013 a 2017, aproximadamente un 37% del trigo panadero, provino de mercados externos, siendo Estados Unidos, Canadá y Argentina, países que han aportado 39%, 32% y 20% de las importaciones en ese período, respectivamente. En Chile la producción de harina de trigo ha estado distribuida en la zona centro y sur del país siendo, históricamente, la Región Metropolitana la de mayor relevancia (ODEPA, 2019).

### **1.1.2 Harina de trigo**

La harina de trigo es un producto derivado del proceso de molienda del trigo y se utiliza como materia prima en la elaboración de productos para el consumo humano (ODEPA, 2019). Por harina, sin otro calificativo, se entiende el producto elaborado con granos de *Triticum aestivum vulgare*, en que por medio de procedimientos de trituración o molienda se separa parte del salvado y del germen, y el resto se muele hasta darle un grado adecuado de finura, previa separación de impurezas (CODEX, 1985; RSA, 2019).

Una harina para realizar pan de alta calidad se caracteriza por poseer un alto contenido de proteínas y gluten fuerte. Para la fabricación de pan se desea una alta absorción de agua, alto contenido de proteínas y de almidón dañado. Además, el

potencial de producción de harinas para pan está fuertemente influenciado por las interacciones cultivo/medio ambiente (Mikhaylenko, 2000).

Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos, la composición de una harina debe cumplir con los valores indicados en la Tabla 1.

**Tabla 1:** Composición requerida para la harina de trigo.

<b>Requerimiento</b>	<b>Valores de referencia RSA</b>
<b>Humedad</b>	Máximo 15,0%
<b>Acidez (expresada como A. Sulfúrico) *</b>	Máximo 0,25%
<b>Cenizas*</b>	Máximo 0,65%
<b>Fibra cruda*</b>	Máximo 0,4%
<b>Materias nitrogenadas*</b>	Mínimo 7%
<b>Color</b>	Blanca, marfil, ligeramente amarillenta
<b>Tiamina</b>	6,3 mg/kg
<b>Riboflavina</b>	1,3 mg/kg
<b>Niacina</b>	13,0 mg/kg
<b>Hierro</b>	30,0 mg/kg

\*Sobre la base de 14,0% de humedad

(RSA,2019)

Los principales componentes de la harina de trigo son almidón, gluten, proteínas que no contienen gluten, lípidos, carbohidratos y minerales. El contenido de cenizas y proteínas se usa comúnmente para evaluar la calidad de la harina. Las cenizas son un indicador de la proporción de salvado en la harina, que puede afectar el color de la harina e influir en la calidad del horneado. El contenido de proteínas está fuertemente influenciado por las condiciones ambientales y las prácticas de manejo de cultivos; sin embargo, la calidad de la proteína está determinada genéticamente (Mikhaylenko, 2000).

Las proteínas generalmente constituyen del 7 al 15% en la harina común en una base de humedad del 14% (composición de la harina en Anexo 1). Dentro de estas proteínas están las proteínas solubles en agua denominadas albúminas (catalizadores biológicos del trigo) que constituyen el 15% del total de las proteínas,

las globulinas (enzimas solubles en soluciones salinas) se encuentran en alrededor de un 3%. La gliadina, es uno de los dos componentes principales del complejo de gluten de trigo, constituye aproximadamente el 33% de todas las proteínas en la harina. Las gluteninas (solubles en ácidos o bases diluidos) representan aproximadamente el 16% del total de proteínas de la harina (Finnie & Atwell, 2017).

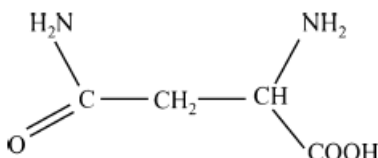
Dentro de la composición de aminoácidos de las proteínas del gluten, gliadina y glutenina, los que otorgan las principales características a este son tres: la glutamina (40%), prolina (10-15%) y cisteína (1-3%). El gluten también contiene otros aminoácidos. Se pueden caracterizar en cuatro tipos según la estructura de su grupo R: ácido, básico, hidrófilo e hidrófobo neutros (Anexo 2).

El gluten es un componente altamente funcional en la harina, el cual corresponde a un complejo de proteínas que después de mezclarse con agua forman el gluten. La funcionalidad del gluten está en gran medida relacionada con las propiedades físicas de sus componentes, la glutenina y la gliadina. La gliadina confiere al gluten su plasticidad y elasticidad, mientras que la glutenina genera una estructura proteica estable en la masa panadera donde quedan englobados el almidón y los gases que le confieren la esponjosidad al pan (Fálder, 2002). En conjunto estas dos proteínas forman el complejo de gluten, el que posee propiedades viscoelásticas (viscoso y elástico). Esta red de gluten proporciona la cohesión necesaria para formar un producto de masa. También inhibe la difusión de gases de levadura a través de la masa cuando está fermentada y permite que el producto suba antes de hornear (Finnie & Atwell, 2017).

El almidón, otro componente importante dentro de la harina de trigo, constituye alrededor de un 63-72% de la harina, según la cantidad de proteína, este se presenta en la harina en forma de gránulos aglutinados por las proteínas. Las harinas procedentes de trigos blandos presentan un almidón menos aglutinado que los procedentes de otros trigos. El almidón está compuesto por muchas moléculas de glucosa unidas entre sí, las cuales forman dos polímeros diferentes para formar el almidón, uno corresponde a amilosa, formada por cadenas lineales de glucosa, aproximadamente el 25% del almidón es amilosa, la otra molécula que compone el

almidón es la amilopectina, formada por cadenas ramificadas con miles de moléculas de glucosa, de las cuales el 75% del almidón es amilopectina. El almidón tiene la propiedad de absorber agua, y al entrar en contacto con agua y calor, se gelifica, parte de este proceso tiene lugar en el pan, pero no llega a ser completo (Fálder, 2002). El almidón puede ser reducido por la alfa y beta amilasa, en dextrinas, maltosa y sacarosa, estas moléculas pueden entrar en reacciones de pardeamiento, por esto cuando la actividad de la alfa amilasa es alta en la harina, los productos terminados pueden mostrar un dorado excesivo después de hornear o freír (Finnie & Atwell, 2017). Por otro lado, las dextrinas, pueden terminar siendo degradadas por las enzimas, en glucosa y fructosa, las cuales son el alimento principal de las levaduras que actúan sobre la harina y permiten obtener panes esponjosos (Fálder, 2002).

La asparagina (Fig. 1) libre encontrada en las harinas comerciales puede variar su contenido dependiendo de las condiciones ambientales y de cosecha (Mikhaylenko, 2000). El interés por la asparagina se ha elevado los últimos años, debido a que varios estudios han revelado que es una precursora de la neurotoxina y potencial carcinógeno, AA, la cual se desarrolla en alimentos sometidos a altas temperaturas mediante horneado, freído o tostado, particularmente en aquellos ricos en carbohidratos. Otros estudios han demostrado que la AA podría formarse en los alimentos por la degradación térmica de la asparagina libre en presencia de azúcares en la reacción de Maillard (Lea et al, 2007).



**Figura 1.** Estructura química de la Asparagina (Lea et al, 2007).

### 1.1.3 Tipos de Harina de trigo panadero

Las panificadoras industriales necesitan de diferentes tipos de harina para poder confeccionar los diferentes productos de panificación. Por esta razón las molineras innovan con harinas diferenciadas de acuerdo con su destino industrial, denominadas, especiales y pre-mezclas, para así permitir a las panificadoras obtener determinadas características reológicas y propiedades viscoelásticas de las masas (De la Horra et al, 2012). Dentro de los tipos de harina panadero que se ofrecen en el país se pueden encontrar los siguientes tipos:

a) Harina de panificación, dentro de la cual se distinguen dos tipos principalmente: las harinas suaves, de bajo volumen o también denominadas de masa dura, utilizadas para la elaboración de pan tipo hallulla, dobladas, colizas, chocosos o pan casero; y el segundo tipo corresponde a las harinas fuertes, de alto volumen o también denominadas de masa blanda, utilizadas para la elaboración de marraquetas, pan francés, pan batido, baguette y pan italiano.

b) Harina de repostería, destinada para la elaboración de productos del mismo rubro, como bizcochos, queques y galletas.

c) Harina de pastas o empanadas, destinada a elaborar productos de masa que luego se someten a un proceso de congelación y que algunos molinos agregan en su oferta.

d) Harinas de pre-mezclas, que contienen mezclas de harina, y el contenido de aditivos específicos y en cantidades necesarias, para que así cumplan con características específicas para la elaboración de distintas preparaciones, ya sea para uso de panadería o repostería.

e) Harinas integrales, esta se obtiene de la molienda del trigo entero, a diferencia de la harina blanca convencional, que se produce a partir del endospermo del grano.

Además, y de manera adicional, las molineras producen la harina de uso doméstico, también denominada harina abarrotera, la cual corresponde a una harina de todo



uso, elaborada en distintos formatos para la venta directa a consumidores, es la harina que se encuentra comúnmente en supermercados (Farías et al, 2019).

#### **1.1.4 Calidad industrial de la harina de trigo**

El trigo presenta una gran variedad en sus características fisicoquímicas y, para poder mantenerlas constantes se mezclan distintos tipos de trigo y harinas, de calidades distintas. La demanda de nuevos productos para satisfacer un mercado cada vez más exigente requiere aplicar técnicas de control de calidad estadístico.

Las harineras logran mejorar la calidad de las harinas, a pesar de la variedad de trigos que reciben, separando los trigos por lotes de calidad, según su fuerza panadera (W), la mezcla de trigos de diferentes calidades según fórmulas matemáticas y/o la mejora con aditivos.

Para poder medir la calidad panadera de la harina de trigo, se puede hacer uso principalmente de dos instrumentos, el farinógrafo y el alveógrafo. El farinógrafo mide propiedades de la masa: absorción de agua, desarrollo, estabilidad y grado de ablandamiento (Monleón & Collado, 2008). El alveógrafo es un aparato que permite obtener información relativa a las propiedades mecánicas de la masa, midiendo parámetros como fuerza panadera (W), tenacidad de la masa (P), extensibilidad de la masa (L) y equilibrio de la harina (P/L), los cuales se expresan en gráficas denominadas alveogramas (Anexo 3). La fuerza panadera (W), corresponde al trabajo de deformación de la masa, el cálculo de la W es en realidad el estudio de la capacidad que tiene el gluten de una masa de resistir a una inyección de aire, lo cual influirá en el volumen de las piezas, por lo tanto, cuanto mayor sea el contenido de gluten de una harina, la W será mayor, ya que la red de gluten será capaz de atrapar en su red el aire inyectado sin reventar. Según este valor las harinas se pueden clasificar según su fuerza, desde harinas para repostería con un  $W < 130$  hasta harinas de gran fuerza con un  $W > 300$  (Molino Linderos, 2021).

El valor P, representa la tenacidad de la masa, corresponde a la altura de la curva en la gráfica, se mide en milímetros, mientras más alta sea la curva, más tenaz será la masa. La tenacidad es la resistencia que ofrece la masa a ser estirada, en las harinas demasiado tenaces es difícil conseguir un buen amasado. El valor L, representa la extensibilidad y también se mide en milímetros, y corresponde a la base de la curva, mientras más larga sea la curva, más extensible será la masa. La extensibilidad es la capacidad que tiene una masa a dejarse estirar hasta romper y finalmente P/L, es la relación entre la tenacidad y la extensibilidad, y se denomina equilibrio. Dicho factor se determina por la división del valor P por el valor L (García, 2020), le índice de elasticidad ( $P_{200}/P$ ), este factor hace referencia a la presión tras el soplado de 200 ml ( $P_{200}$ ) o 4cm desde el origen de la curva y G índice de hinchamiento, viene dado por la capacidad de romper la burbuja de la masa (BAM, 2016).

Los principales métodos de control de calidad en las harinas son: características sensoriales (color, olor, sabor, granulosis, examen microscópico), inspección visual para descartar contaminación por insectos y otras plagas, composición química (humedad, gluten húmedo, proteínas, índice de sedimentación (Zeleny), índice de Hagberg (falling number), almidón dañado, cenizas, grasa) y métodos reológicos (alveógrama, farinógrama, amilograma, reofermentograma) (Monleón & Collado, 2008).

### **1.1.5 Agua**

Seguido de la harina, el agua es el segundo componente mayoritario de la masa y ayuda al proceso de amasado de la harina. El agua proporciona la hidratación a la harina, lo cual sumado al trabajo mecánico, forman la red de gluten, que le confiere a la masa sus características de cohesión, elasticidad, plasticidad y tenacidad. La presencia de agua en la masa también es necesaria para el desarrollo de las levaduras que han de llevar a cabo la fermentación del pan (Mesas et al. 2002).

### **1.1.6 Sal**

El principal objetivo de la sal es dar sabor al pan. Por otro lado, también actúa como un regulador en la fermentación, favorece la coloración de la corteza durante la cocción y aumenta la capacidad de retención de agua en el pan (Mesas et al. 2002).

### **1.1.7 Levadura**

En panadería las levaduras son el componente microbiano aportado a la masa, la cual realiza el proceso de la fermentación, liberando etanol y CO<sub>2</sub>. Este CO<sub>2</sub>, queda atrapado en la masa, provocando lo que se denomina levantamiento de la masa, donde se aporta volumen y esponjosidad a la masa. Los microorganismos presentes en estas levaduras son los responsables de la fermentación alcohólica, pero también se pueden encontrar bacterias que actúan durante la fermentación dando productos secundarios que van a conferir al pan determinadas características organolépticas, en concreto una cierta acidez (Mesas et al. 2002).

## **1.2 Pan**

Por la denominación de pan, según el Reglamento Sanitario de los Alimentos se entiende que es “el producto de la cocción de la masa resultante de una mezcla de harina de trigo, levadura de panificación, agua potable y sal comestible, con o sin adición de mejoradores de panificación y/o enriquecedores, tales como: leche, azúcares, materias grasas u otros autorizados por el reglamento” (RSA, 2019).

Además, deberá presentar las siguientes características:

- Olor y sabor característicos
- Cocción y panificación normales
- Limpio y sin cuerpos extraños
- No más del 36% de agua, en muestras tomadas 1 hora después de salidas del horno
- No más de 0,25% de acidez, expresada en ácido sulfúrico (calculada sobre la base de 30,0% de agua).

(RSA, 2019)

En la elaboración del pan son tres las etapas principales: el amasado (harina, agua, levadura y sal), fermentación de la masa y finalmente el horneado. Durante el proceso de horneado, el almidón se gelatiniza y las proteínas se desnaturalizan a una temperatura interna de 60-80 °C y luego la masa cruda se transforma en un producto liviano, poroso y fácilmente digerible; además durante este proceso se forma la corteza del pan, esto debido a que el contenido de agua en la superficie disminuye por el efecto de la alta temperatura, dando una textura diferente entre la miga y la corteza (Ramírez et al, 2000).

La harina y el resto de los ingredientes afectan a la reología de las masas y las características del producto final. La harina afecta principalmente las características de firmeza y miga del pan. El contenido de proteína de la harina es uno de los principales factores que influye en el comportamiento reológico de las masas, determinando así su calidad panadera. En general, el volumen del pan es favorecido con el contenido de proteína (Magaña et al, 2011).

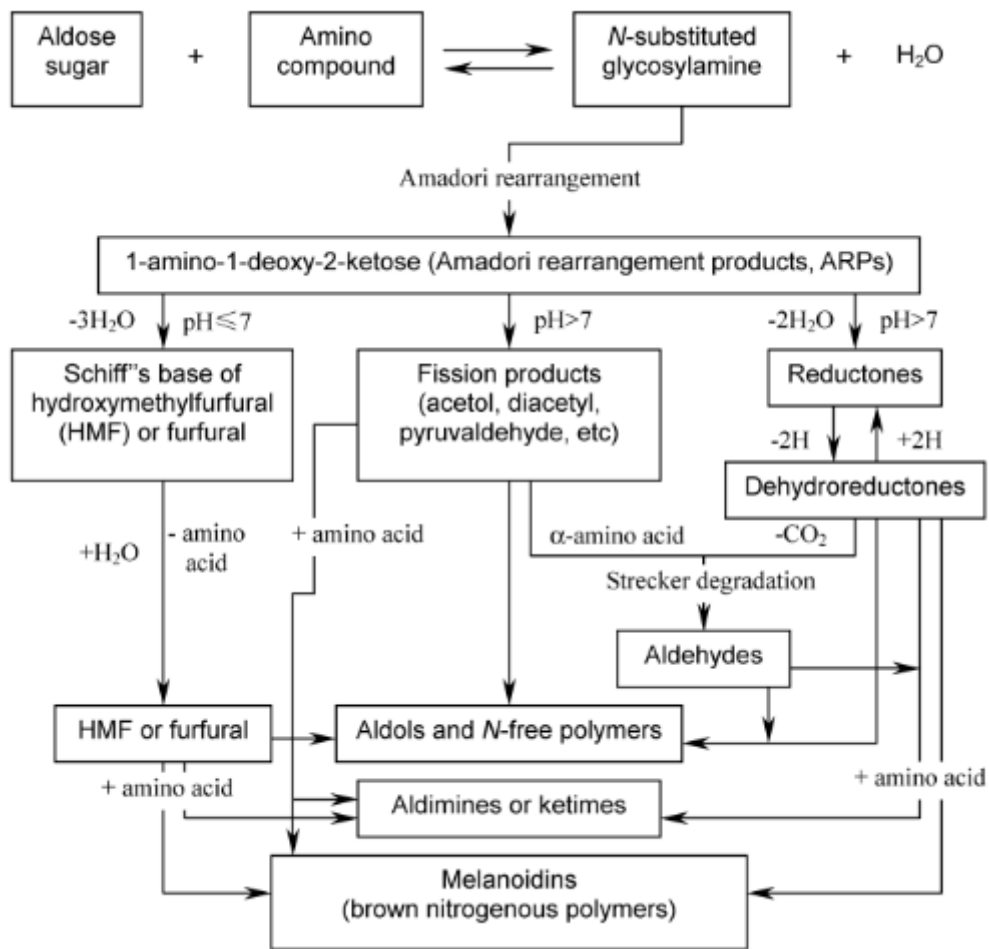
El pan marraqueta es un pan crujiente, sabroso, ligero y no contiene grasa, dentro de sus ingredientes se encuentran: harina, agua, azúcar, sal y levadura. Se caracteriza por su particular forma, de agrupaciones de panes pequeños que son fácilmente separables, además de que en su elaboración requiere de una doble fermentación (Ehrenfeld, 2013).

### 1.3 Neo-contaminantes

Los procesos térmicos son importantes para garantizar la seguridad alimentaria y otorgar a los alimentos características sensoriales atractivas buscadas por los consumidores. Estos atributos se generan a través de reacciones entre los componentes de los alimentos al ser sometidos a altas temperaturas (ej., reacción de Maillard).

Estas reacciones contribuyen a la formación de color, sabor, aroma y textura en los alimentos, pero además de estas cualidades sensoriales buscadas, se forman compuestos no deseados, denominados neo-contaminantes (Zhao, 2017).

La reacción de Maillard y la caramelización son las más importantes durante la fabricación de productos de panadería. La Reacción de Maillard está estrictamente ligada a la calidad y seguridad alimentaria de los alimentos tratados térmicamente y junto con la caramelización y la oxidación del ácido ascórbico, es el principal impulsor del pardeamiento no enzimático. La Reacción de Maillard ocurre entre un compuesto carbonilo, principalmente el resto carbonilo de un azúcar reductor y un grupo amino homólogo, que puede ser una amina, un aminoácido, un péptido o una proteína (Troise & Fogliano, 2013). En la figura 2 se muestra el mecanismo de reacción para la Reacción de Maillard, donde primeramente un azúcar reductor se une a un grupo amino libre para formar el producto de reordenamiento de Amadori (ARP), la fragmentación del APR depende del pH y de los reactivos disponibles. A pH 7 o inferior se produce formación de HMF y Furfural. A pH mayor a 7 ocurre la reacción de Strecker, y ya luego ocurren una serie de reacciones, las cuales llevan a una etapa final donde se produce la formación de polímeros nitrogenados de color marrón y copolímeros conocidos como melanoidinas (Zhang et al, 2007). Por otro lado, el APR descarboxilado de asparagina junto con azúcares reductores es el principal precursor en la formación de AA (Troise & Fogliano, 2013).



**Figura 2.** Vía general de la reacción de Maillard según Hodge (Zhang et al,2007)

Así, en el caso de los productos de panadería los neo-contaminantes más importantes formados a través de reacción de Maillard y la caramelización, son la AA y el HMF, respectivamente. Estos compuestos son potencialmente cancerígenos para los humanos o podrían ser metabolizados por humanos a compuestos potencialmente cancerígenos (Pedreschi et al, 2017).

### 1.3.1 Acrilamida (AA)

La AA se forma durante procesos térmicos como el freír, asar y hornear, normalmente no se encuentra en los alimentos hervidos o expuestos al microondas. Los niveles más altos de AA se han encontrado en productos de papa frita, pan, productos de panadería y café (Anexo 4) (Capuano & Fogliano, 2011). La AA (2-propenamida) se presenta como un polvo blanco cristalino soluble en agua, etanol, metanol, dimetiléter y acetona; no es soluble en heptano ni benceno. Se polimeriza rápidamente al alcanzar el punto de fusión o al ser expuesto a la luz ultravioleta. La AA se emplea fundamentalmente en el tratamiento del agua potable, en el procesado de la pulpa de papel y también para retirar sólidos en suspensión de las aguas residuales de la industria. (Valenzuela & Ronco, 2007).

La AA es cancerígena en roedores y ha sido clasificada como probable cancerígena para los humanos (2A) por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. La exposición de la AA a los humanos debe controlarse, y ser lo más baja posible, ya que estudios toxicológicos, sugieren que los vapores de AA irritan los ojos y la piel, causando parálisis del sistema cerebroespinal (Norouzi et al, 2018). La AA se encuentra en muchos tejidos y partes del cuerpo, transfiriéndose a través del torrente sanguíneo, a lugares como el hígado, riñones, cerebro e incluso la leche materna, además la AA posee propiedades tóxicas, que incluyen neurotoxicidad, genotoxicidad para las células somáticas y germinales, carcinogenicidad y toxicidad para la reproducción. La AA se encuentra en alimentos ricos en carbohidratos y, además, como ya se ha mencionado anteriormente, se genera principalmente a partir de la reacción de Maillard, donde los aminoácidos reaccionan con azúcares reductores a altas temperaturas (sobre 120°C) (Zhang et al, 2009).

En los alimentos, la vía más importante en la formación de AA es a través de la reacción de Maillard, formándose con la participación crucial de la asparagina, la cual es abundante en papas y cereales, que reacciona con el grupo carbonilo de un azúcar reductor como la fructosa o glucosa (Echeverri et al, 2014). Por otro lado, la oxidación de lípidos es conocida como una vía menor en la formación de AA, donde el ácido acrílico participa como precursor directo formado a través de la acroleína por la degradación oxidativa de los lípidos (Zhang et al, 2009).

Algunas de las vías de formación de la AA se muestran en el anexo 5, ocurriendo primeramente la reacción entre la asparagina libre y una fuente de carbonilo, preferentemente un azúcar reductor (reacción amino-carbonilo), lo que resulta en la asparagina n-glicosilada, que por deshidratación a elevadas temperaturas forma la base de Schiff. Esta última puede ser capaz de realizar la descarboxilación a través del intermediario oxazolidina-5-ona, que por tautomerización forma el producto amadori descarboxilado. Este compuesto reacciona a través de la ruptura del enlace covalente carbono-nitrógeno, formando la AA. Por otro lado, la base de Schiff también se puede descarboxilar y generar el iluro de azometina I y este liberar AA. (Zhang et al, 2009; Plaza, 2015). En resumen, la AA puede liberarse a través de tres vías: (a) directamente del iluro de azometino I, (b) a través de la reacción de eliminación del producto de Amadori decarboxilado, y (c) a través de la pérdida de amoníaco de la 3-aminopropionamida derivada del iluro de azometino II, además esta última se ha demostrado que procede preferentemente en condiciones acuosas en ausencia de azúcares (Zhang et al, 2009).



### 1.3.2 Hidroximetilfurfural

El hidroximetilfurfural, HMF o 5-(Hidroximetil)-2-furfural es un aldehído cíclico, intermediario en la reacción de Maillard, que también se forma por la deshidratación de azúcares a elevadas temperaturas (caramelización). La cantidad de HMF encontrada en los alimentos depende de la carga de calor aplicada a los productos procesados que poseen altos contenidos de carbohidratos. Algunos de los alimentos donde se encuentra presente son, la malta, jugos de fruta, café, vinagre y miel (Anexo 6) (Capuano & Fogliano, 2011), pero los alimentos que contribuyen con una mayor ingesta de HMF son el pan y el café, debido a su alto consumo (Barrios et al, 2022).

El HMF no se presenta en los alimentos frescos que no han sido procesados, pero se acumula rápidamente en alimentos ricos en carbohidratos, durante el tratamiento térmico y el almacenamiento. Por este motivo es que se considera como parámetro de calidad en determinados alimentos, que han sido sometidos a altas temperaturas o almacenamientos excesivos, como frutas procesadas, café, miel y leche. También se utiliza para el control de los tratamientos térmicos aplicados a derivados de cereales, como son los procesos de secado de la pasta, horneado y tostado de pan o la extrusión de cereales infantiles y de desayuno (Ameur et al, 2006).

El HMF se considera como genotóxico y en algunos casos como potencial carcinógeno, bajo ciertas condiciones experimentales. El HMF mostró ser cancerígeno en roedores y además presentar actividad mutagénica en bacterias como la *Salmonella typhimurium TA104* o en células de mamíferos, que en presencia de sulfotransferasas convierten el HFM en SMF (sulfoximetilfurfural), el cual se asocia con efectos citotóxicos y genotóxicos (Van Der Fels et al, 2014).

El contacto con HMF puede ocurrir por diversas vías, ya sea por ingestión, inhalación o absorción cutánea, el HMF a altas concentraciones es citotóxico, irrita los ojos, el tracto respiratorio superior, la piel y las membranas mucosa (Capuano & Fogliano, 2011).

EL HMF se puede formar por distintas vías (Anexo 7), pero principalmente se forma a través de 2 procesos durante los procesos térmicos; el primero es como un intermediario en la caramelización (deshidratación de azúcares en condiciones ácidas), la cual ocurre en alimentos con altas concentraciones de carbohidratos que son sometidos a calentamiento y tostado en seco, a altas temperaturas. Dependiendo del tipo de azúcar, en fructosa por ejemplo comienza la caramelización a 110°C, mientras que en otras hexosas comienza a temperaturas sobre los 160°C (Van Putten, 2013). El segundo proceso es donde el HMF se forma como un intermediario en la reacción de Maillard, la cual consiste en una reacción entre el grupo carbonilo del azúcar y el grupo amino de un aminoácido, es un proceso que suele ocurrir a altas temperaturas y pH ácido (4–7), la reacción se ve favorecida en alimentos con alto contenido de proteínas y carbohidratos, además de un contenido de humedad intermedio (Rosatella et al, 2011).

#### **1.4 Contenido de neo-contaminantes en productos de panadería**

Los productos de panadería comprenden a todos aquellos alimentos en los que se utiliza harina de cereal como producto básico en su elaboración, y que además han sido sometidos a un proceso de horneado, el cual se realiza en un horno o producto de calefacción a temperaturas de hasta 260°C (Mesias et al, 2016). Dentro de estos alimentos se incluye el pan, galletas, pasteles, muffins entre otros. El proceso de elaboración de estos productos consta de tres etapas: mezclado de la masa, fermentación de la masa y horneado o freído, según sea el caso (Jiménez et al, 2000). Todos estos alimentos son sometidos a altas temperaturas durante su elaboración, en el proceso de horneado, durante el cual se desencadenan una serie de reacciones que afectan las características finales del alimento, las cuales pueden ser positivas, afectando la textura, sabor, color y aroma, que son de gran importancia para los consumidores. Por otro lado, también existe el desarrollo de características no deseadas como la formación de neo-contaminantes, como AA y HMF, formados como consecuencia de la reacción de Maillard y caramelización, respectivamente (Mesias et al, 2016).

Los contenidos de AA en los productos de panadería pueden variar desde valores no detectables instrumentalmente, como en migas de pan, a valores de más de 2000 µg / kg en productos como galletas saladas (Mesias et at, 2016).

Un estudio realizado por Barrios (Barrios et al, 2021), donde se realizó un estudio con alimentos ricos en almidón de alto consumo en Santiago de Chile. Tras realizar una encuesta se encontró el grupo del pan como el de mayor consumo con 216,9 g/día. Además, en el mismo estudio se registró el contenido de AA de estos alimentos, encontrándose el pan, dentro del grupo de alimentos con menos contenido de AA, sin embargo, debido a su alto consumo genera una gran importancia. Los valores de AA registrados para pan fueron en promedio 73,34µg/kg lo que equivaldría a una ingesta diaria promedio de AA de 0,22 µg/kgDía, por otra parte, estos niveles de AA en pan se encontrarían por sobre los establecidos por la Comisión Europea, que establece un nivel de referencia de 50 µg/kg en pan (Barrios et al, 2021).

En el caso del HMF, este se encuentra en mayores cantidades en alimentos como frutas (jugos de frutas y fruta deshidratada) o caramelos, pero el pan al ser uno de los alimentos de ingesta diaria en las personas, es uno de los mayores contribuyentes junto con el café, estimándose, por la FDA, concentraciones de AA entre 70 y 320  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Barrios et al, 2022) (Capuano, 2011).

## **2. HIPÓTESIS**

La concentración de neo-contaminantes Acrilamida (AA) e Hidroximetilfurfural (HMF), formados durante el horneado, junto con las características sensoriales del pan “marraqueta”, varían según la composición de la harina usada.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. Objetivo General**

Determinar la influencia de la composición de la harina de trigo sobre la concentración de neo-contaminantes (AA y HMF) y características sensoriales en pan tipo marraqueta

### **3.2. Objetivos Específicos**

1. Realizar pruebas de formulación con harinas de distinta composición y características reológicas, con el fin de estandarizar el proceso de elaboración de marraqueta.
2. Evaluar las concentraciones de AA y HMF en pan marraqueta elaborado con harinas con distintos porcentajes de proteínas.
3. Medir aceptabilidad y preferencia con consumidores en muestras de marraqueta elaboradas con harinas de distintos porcentajes de proteínas.
4. Evaluar el efecto de la composición proteica de harinas sobre la formación de neo-contaminantes y la calidad sensorial de las marraquetas elaboradas.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Obtención de las Harinas

Se trabajó con 3 harinas de distinto contenido proteico, las cuales fueron proporcionadas por Molino Linderos, Harina Hallulla (HH) (9,3%), Harina Super Pan (HSP) (9,9%) y Harina Super Pan2 (HSP2) (10%), con sus respectivos alveogramas y composición nutricional. Las harinas fueron almacenadas en el Laboratorio de Inocuidad Alimentaria, de la Pontificia Universidad Católica de Chile, en condiciones de temperatura ambiente.

Las harinas proporcionadas por el Molino Linderos cuentan con las siguientes especificaciones:

- Harina Hallulla (HH): Con el menor contenido de proteínas 9,3%, apta para cualquier tipo de masa que pase por laminadora.
- Harina Super Pan (HSP): Con un contenido intermedio de proteínas 9,9%, la cual es una harina especial, buen color y fuerza intermedia, apta para todo tipo de pan.
- Harina Super Pan 2 (HSP2): Con mayor contenido de proteínas de 10%, la cual corresponde a una harina de fuerza.

El análisis de sus características reológicas y composición nutricional se interpreta en el punto 5.1.1 de esta memoria.

## **4.2. Elaboración de las muestras**

Para la elaboración del pan marraqueta, se utilizó como base la formulación usada por Marín (2017), la cual, luego de varias pruebas de formulación se ajustó a los requerimientos necesarios para la elaboración del presente proyecto, produciendo así aproximadamente 800g de pan marraqueta por lote, el cual está compuesto de 8 marraquetas. El proceso utilizado para la elaboración de las marraquetas se muestra en la figura 3.

Para el análisis de neo-contaminantes, se elaboró un lote por cada muestra de harina, a cada muestra de marraqueta se les extrajo la corteza en su totalidad, mediante el uso de un rallador, desechando completamente la miga la del pan. Luego de esto, las cortezas extraídas fueron molidas mediante el uso de un procesador de alimentos, para ser almacenadas en bolsas con cierre hermético y almacenadas bajo congelación durante una semana, para luego ser sometidas a los análisis.

Para las muestras destinadas a evaluación sensorial, se seleccionaron dos de las tres harinas utilizadas anteriormente (HSP y HSP2), y de estas se elaboraron dos lotes por cada muestra de harina, las cuales fueron enfriadas a temperatura ambiente, y luego almacenadas en bolsas herméticas, por no más de 24 horas hasta el momento de la evaluación, donde antes de la evaluación fueron rociadas con agua y calentadas en un horno eléctrico a 150°C por 5 minutos.



**Figura 3.** Diagrama de bloques del proceso de elaboración de pan marraqueta.



- **Recepción de materias primas:** Se recibieron las materias primas mencionadas anteriormente para la elaboración del pan, asegurando el correcto estado de estas.
- **Amasado:** Una vez fueron pesados los ingredientes se adicionaron a la amasadora, incorporando primero la harina y la sal, luego se adiciono la levadura previamente activada. El proceso de amasado se realizó en la batidora eléctrica 5K45SS, KitchenAid, a velocidad 2 por 18,25 minutos obteniendo una masa homogénea.
  - **Activación de la levadura:** Para este paso, se pesó la levadura, azúcar y agua (30°C). A la levadura se le adiciono el agua y el azúcar, formando una suspensión para su activación, se dejó reposar por 15 minutos, para luego ser adicionado con el resto de los ingredientes.
- **Moldeado 1:** Se tomaron dos ovillos de masa, de aproximadamente 100 g cada uno, y se dio la forma de la marraqueta.
- **Fermentación 1:** Las marraquetas formadas fueron llevadas en una bandeja al fermentador y se dejaron allí durante 15 minutos a 50°C.
- **Moldeado 2:** Mediante el uso de una varilla para cocina, se realizó la división característica de las marraquetas.
- **Fermentación 2:** Las marraquetas fueron nuevamente llevadas al fermentador, durante 45 minutos a 50°C, para que terminen de desarrollarse los sabores y textura características del producto final.
- **Horneado:** Se dispusieron las bandejas en un horno a una temperatura de 220°C durante 17 minutos.
- **Almacenamiento:** Luego de hornearse, el pan se enfrió en condiciones de temperatura ambiente (20-25°C), para el análisis de neo-contaminantes, se extrajo la corteza de las muestras, se molieron y fueron almacenadas en bolsas con cierre hermético, para mantenerlas en refrigeración hasta el momento de los análisis, por otro lado, las muestras destinadas a evaluación sensorial se almacenaron a temperatura ambiente, por no más de 24 horas hasta el momento de la evaluación

### **4.3 Determinación de neo-contaminantes**

#### **4.3.1 Determinación de AA en pan marraqueta**

Para determinar la cantidad de AA presente en las muestras de marraqueta se tomaron 2 g de la corteza de las muestras previamente molidas, en un tubo de centrifuga y se adicionaron 40 µL de la solución de trabajo SI (20mg/L AA-D3) y 10 mL de metanol. Las muestras se agitaron por 30 segundos en vortex y se dejaron en ultrasonido a 60°C por 20 minutos. Se centrifugan las muestras a -4°C y 6000 rpm por 10 min. Se extrajeron 5 mL de sobrenadante y se hicieron pasar por un cartridge de fase reversa C18 con la ayuda de un manifold con vacío para recuperar el extracto. Posteriormente se pasaron 5 mL de metanol y se juntó con el volumen de extracto obtenido anteriormente en un tubo de centrifuga de 50 mL, se adicionaron 10 mL de n-Hexano, para ser sonicado por 5 min y posteriormente centrifugado a -10°C y 6000 rpm por 10 min. Luego se tomó solo la fase inferior (Metanol) y se llevó a un balón esmerilado de 100 mL. Se evaporo a 40°C el solvente hasta sequedad. Se adiciono 1 mL de metanol y se extrajo la mayor cantidad del reconstituido. Se filtro el reconstituido a través de una jeringa de 3 mL y un filtro de 0,2 µm para disponer en viales de 2 mL.

La cuantificación de AA se realizó en triplicado, mediante cromatografía gaseosa acoplada a un detector de masa (GC-MS) de ionización química (CH<sub>4</sub>) en modo SIM negativo, las condiciones del equipo se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2:** Condiciones del equipo GC-MS para la cuantificación de AA

<b>Parámetro</b>	<b>Condición</b>
<b>Columna</b>	DB-FFAP; 30 m x 250 µm x 0.25 µm
<b>Volumen de inyección</b>	2 µL
<b>Rampa de temperatura del horno</b>	60 °C por 1 min, 10 °C/min hasta 190 °C y 50 °C/min hasta 240°C
<b>Flujo columna</b>	0,8 mL/min helio, 200 °C
<b>Temperatura de la fuente (MS)</b>	250 °C
<b>Temperatura del cuádruplo (MS)</b>	150 °C
<b>Temperatura de interfase</b>	250 °C

#### 4.3.2 Determinación de HMF en pan marraqueta

La determinación del contenido de HMF presente en las muestras de marraqueta se realizó mediante el método desarrollado por Toker et al. (2013), con algunas modificaciones. Consistiendo en lo siguiente:

Se dispuso de 1g de la corteza de las muestras previamente molidas, junto a 20 ml de agua en un tubo de centrifuga. Para la eliminación de interferentes se adicionó 1,5 ml de reactivo de Carrez I ( $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ ) y 1,5 mL de reactivo de Carrez II ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) agitando mediante vortex en cada adición, para luego centrifugar durante 15 min a 6000 rpm, luego se filtró el sobrenadante en filtro de nylon de 0,22 µm. y se dispuso en vial de 2 ml para su posterior análisis en HPLC-DAD.

La cuantificación de HMF se realizó en duplicado, mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de diodos (HPLC-DAD). Las condiciones del equipo se muestran la tabla 3.

**Tabla 3:** Condiciones del equipo HPLC-DAD para la cuantificación de HMF

<i>Parámetro</i>	<i>Condición</i>
<b>Fase móvil</b>	Ácido acético al 1%/acetonitrilo (proporción 95/5%)
<b>Flujo fase móvil</b>	1 mL/min
<b>Longitud de onda del detector</b>	284 nm
<b>Volumen de inyección</b>	20 µL
<b>Columna</b>	Acclaim <sup>TM</sup> 120 C18 5 µm 120 Å 4.6x 150 mm

#### 4.4 Evaluación sensorial

Para la evaluación sensorial, se decidió utilizar dos muestras de marraqueta elaboradas a partir de diferentes harinas, ya que por logística era imposible fabricar tres muestras al mismo tiempo para evaluar. Se seleccionaron aquellas con mayor variación en su composición, principalmente en su contenido proteico, fuerza panadera, y una mayor diferencia en cuanto a su contenido de neo- contaminantes. La preparación de las muestras se realizó en el Laboratorio de Inocuidad Alimentaria de la Pontificia Universidad Católica de Chile, un día antes de la evaluación de las mismas, para ello se prepararon dos lotes de cada muestra de harina, correspondiente a 16 unidades de pan marraqueta, las que una vez frías se almacenaron en bolsas herméticas hasta su uso.

##### 4.4.1 Desarrollo de la evaluación

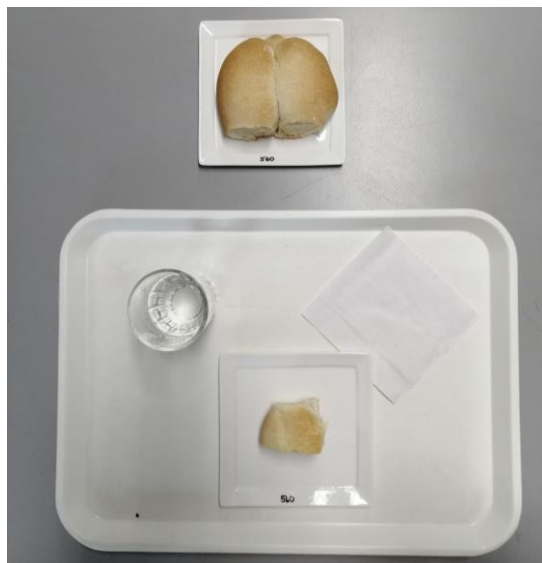
Las muestras de marraqueta fueron preparadas el día anterior a la evaluación, siguiendo la metodología de elaboración, para el día de la evaluación, ser rociadas con agua y posteriormente calentadas en horno eléctrico precalentado a 150°C, durante 5 minutos y así recuperar la textura de pan recién horneado. La evaluación sensorial de pan tipo marraqueta se realizó en el Laboratorio de Ingeniería de Procesos ubicado en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

La selección de consumidores se realizó en el patio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, de la Universidad de Chile, utilizando como filtro para la evaluación, que los evaluadores presentaran una frecuencia de consumo de pan de al menos 1 vez por semana.

La estructura del cuestionario fue la siguiente: Se evaluó aceptabilidad, para los atributos de forma, sabor y textura general, con una escala hedónica de 7 puntos, justo agrado, para los atributos de apariencia (aroma característico de la marraqueta, color de la corteza, color de la miga), sabor (intensidad de sabor, sabor tostado) y textura de las muestras (crujencia de la corteza, dureza de la corteza y esponjosidad de la miga), con una escala de justo agrado de 5 puntos, además se evaluó la preferencia entre ambas muestras de marraquetas junto a una pregunta abierta con las razones espontáneas de preferencia (cuestionario completo en Anexo 8).

La evaluación se llevó a cabo en forma presencial mediante formularios de Google, el enlace fue entregado a cada participante vía correo electrónico para que completara el cuestionario en su dispositivo móvil.

Para la evaluación se colocaron las muestras en platos codificados, donde se asignó un número de tres dígitos a cada muestra. Se hizo uso de dos formularios con distinto orden de muestras, para así evitar sesgos en la evaluación. Se dispuso de la muestra completa de marraqueta frente a los consumidores para evaluar la apariencia de la marraqueta. Al llegar a la evaluación de los atributos correspondientes a sabor, aroma y textura, se entregó una bandeja donde se dispuso un trozo de la muestra individual en un plato codificado y un vaso de agua filtrada para neutralizar, tal como se muestra en la figura 4.



**Figura 4.** Bandeja de evaluación con consumidores

La evaluación se realizó en forma monádica, presentando la segunda muestra al terminar la evaluación de la primera. La evaluación se realizó en mesones (Fig 4).



**Figura 5.** Desarrollo de la evaluación por parte de los consumidores.

#### **4.4.2 Análisis estadísticos**

El análisis estadístico de la cuantificación de neo-contaminantes se realizó mediante ANOVA de un factor con un nivel de significancia del 5%, utilizando el software estadístico IBM SPSS Statistics 29.0.

El análisis de los resultados de aceptabilidad se realizó mediante ANOVA de dos vías (muestras y consumidores,  $p \leq 0,05$ ), mediante el software Statgraphics Centurión XVI.I, fabricado por StatPoints Technologies.

Para las preguntas de justo agrado se utilizó la comparación de frecuencias por distribución normal, con un nivel de significancia del 5%.

Para preferencias se utilizó la tabla de mínimos juicios correctos basada en la distribución binomial para análisis de dos colas. Para el análisis de la pregunta abierta se confeccionó un libro de códigos, donde se codificaron todas las respuestas abiertas entregadas por los evaluadores, además de la comparación de frecuencias por distribución normal, con un nivel de significancia del 5%.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1 Elaboración y formulación de las marraquetas

Para realizar las pruebas de formulación de una manera más eficiente es importante analizar la composición y características reológicas de cada una de las harinas, para así poder predecir su comportamiento al momento de realizar las muestras.

#### 5.1.1 Composición y caracterización de las harinas

Se realizó el análisis de la composición nutricional y de los alveogramas de las harinas utilizadas en el proyecto. En la tabla 4, se muestra la composición nutricional correspondiente a cada una de las harinas.

**Tabla 4:** Composición de los distintos tipos de harina

<b>Componente (por 100 g)</b>	<b>HH</b>	<b>HSP</b>	<b>HSP 2</b>
<b>Energía (Kcal)</b>	332,0	341,0	343,0
<b>Proteínas (g)</b>	9,3	9,9	10,0
<b>Grasa Total (g)</b>	1,4	2,2	1,7
<b>Hidratos de Carb. Disp. (g)</b>	71,0	71,0	72,0
<b>    Azúcares Totales (g)</b>	2,2	0,7	0,7
<b>Fibra dietaria Total (g)</b>	4,9	3,5	2,8
<b>Sodio (mg)</b>	0,011	0,017	0,008

Donde HH: Harina Hallulla; HSP: Harina Super Pan; HSP: Harina Super Pan 2. (Base 14% humedad). (Molino Linderos, 2021)

De acuerdo con la tabla 4, se puede observar que la HH posee un contenido bastante mayor de azúcares totales (2,2%) con respecto a las otras dos harinas (0,7%).

En cuanto a la cantidad de proteínas de las harinas, según la tabla 4, se puede observar que la HH posee el valor más bajo para este componente, siendo 9,3%, mientras que las otras dos harinas, HSP y HSP2, presentan un valor bastante cercano entre ellas, de 9,9 y 10,0 %, respectivamente.



En la tabla 5, se muestran los valores de las características reológicas obtenidos de los alveogramas proporcionados por el Molino Linderos para cada harina utilizada.

**Tabla 5:** Valores de las características reológicas de las harinas, recopilados de los alveogramas

<b>Tipo Harina</b>	<b>P [mmH<sub>2</sub>O]</b>	<b>L [mm]</b>	<b>W [10<sup>-4</sup> J]</b>	<b>P/L</b>
<b>HH</b>	79	79	229	1
<b>HSP</b>	98	56	233	1,75
<b>HSP2</b>	77	112	333	0,69

En la tabla, P: Tenacidad; L: Extensibilidad; W: Fuerza panadera; P/L: Relación tenacidad y extensibilidad. HH: Harina Hallulla; HSP: Harina Super Pan; HSP 2: Harina Super Pan 2. (Molino Linderos, 2021)

De acuerdo con los valores que indican los alveogramas, la HSP tiene el mayor P (tenacidad), por lo que esta harina sería más difícil de manejar, ya que la masa ofrece una mayor resistencia al momento de ser estirada. En cuanto a la extensibilidad (L) y la fuerza panadera (W), la HSP2 obtuvo el mayor valor en ambos. La combinación de estos dos factores permitiría un mayor volumen de las piezas de pan formadas, esto debido a que una alta W implica mayor presencia de gluten, lo que permite una red más resistente que soporta la estructura y retiene de mejor manera el gas producido por fermentación (Masa Mater, 2020).

El valor W también indica qué tipo de harina es, según se indica en la tabla 6, la HH y HSP corresponden a harinas de una fuerza intermedia, mientras que la HSP2 corresponde a una harina de gran fuerza (Molino Linderos, 2021).

**Tabla 6:** Clasificación de las harinas de acuerdo con su fuerza.

<b>Fuerza (W)</b>	<b>Tipo de Harina</b>
$W < 130$	Harina para repostería.
$150 < W < 250$	Harina para panadería, fuerza intermedia
$250 < W < 300$	Harina de media fuerza.
$W > 300$	Harina de gran fuerza.

(Molino Linderos, 2021)

### 5.1.2 Desarrollo de la formulación

Para la elaboración de las marraquetas se usó como base la formulación de Marín (Marín, 2017), como se muestra en la tabla 7, la cual se modificó con ayuda de la formulación de pan batido (Pan batido, 2021) para llegar a una nueva formulación utilizada en el proyecto. Se aumentó la cantidad de agua principalmente, ya que las harinas contienen mayor cantidad de proteínas de gluten, las que requieren una mayor cantidad de agua al momento de realizar el amasado y así lograr la red de gluten. También basándose en las recetas tomadas como base se aumentó levemente la cantidad de sal, ya que al contener una mayor cantidad de agua es necesario aumentar levemente la sal para realzar los sabores. En la nueva formulación, se obtienen aproximadamente 800g de pan marraqueta.

**Tabla 7:** Formulaciones utilizadas en la elaboración de marraquetas

<b><i>Ingredientes</i></b>	<b><i>Formulación Marín</i></b>	<b><i>Formulación Nueva</i></b>
<b>Harina de trigo</b>	500 g	500 g
<b>Agua tibia (30°C)</b>	280 g	325 g
<b>Sal</b>	7 g	10 g
<b>Levadura seca</b>	5 g	5 g
<b>Azúcar</b>	5 g	5 g

El proceso de elaboración de las marraquetas fue similar al descrito por Marín (2017), realizando modificaciones en el tiempo del protocolo. Marín indica una primera fermentación de 30 min, lo cual se modificó a 15 min, disminuyendo la pérdida de gas al separar la masa para obtener la forma de la marraqueta. Esto, en combinación a extender en 15 min el tiempo de la segunda fermentación, maximiza el volumen de las piezas de pan. El tiempo de horneado de las muestras fue de 17 min, 3 min menos que lo propuesto por Marín, para obtener un dorado de corteza adecuado entre las muestras.

### 5.3 Cuantificación de HMF

Para la cuantificación de HMF se siguió la metodología expuesta en el punto 7.3.2, encontrándose los resultados que se muestran en la tabla 8.

**Tabla 8:** Cuantificación de HMF para las muestras de marraqueta elaboradas con harina con distinto contenido proteico

<i><b>Muestra de harina</b></i>	<i><b>Cantidad de HMF mg/kg</b></i>
<b>HH</b>	25,5 <sup>a</sup> ± 0,9
<b>HSP</b>	15,6 <sup>b</sup> ± 0,7
<b>HSP2</b>	19,1 <sup>ab</sup> ± 0,2

Cantidad de HMF promedio expresada como promedio ± desviación estándar, las réplicas de los promedios se muestran en anexo 9. Donde HH: Harina Hallulla; HSP: Harina Super Pan; HSP 2: Harina Super Pan 2. Superíndices indican la diferencia de medias en un nivel de confianza del 5%.

Según la tabla 8, se puede apreciar que la muestra de pan marraqueta elaborada a partir de HSP presentó valores significativamente más bajos con respecto a la muestra elaborada a partir de HH, la cual obtuvo un contenido mayor para este neo-contaminante. Obteniéndose una mitigación de HMF de un 39% al usar harina HSP con respecto a HH.

Que la HH presente un mayor contenido de HMF puede deberse principalmente al mayor contenido de azúcares totales de esta harina, dada la reacción de Maillard explicada anteriormente. Ya que, en cuanto a su composición proteica, esta es similar en ambas harinas, por lo que no genera una diferencia entre ellas.

En cuanto a la diferencia de los valores de HMF entre las HSP2 y HSP, no son significativamente distintos entre sí, esto podría deberse a que su contenido de azúcares totales y proteico es similar entre ellas. Por otro lado, HSP2 tampoco presento diferencias significativas con HH, la cual presento un mayor contenido de HMF con respecto a HSP. Que no existan diferencias entre HH y HSP2 puede

deberse que al presentar un mayor contenido de proteínas HSP2 aumento su contenido de HMF, lo cual se condice con la literatura que afirma que al tener un mayor contenido de proteínas aumenta el contenido de HMF (Rossatella, 2011). Con lo anterior se infiere que a un mayor contenido de azúcares totales y de proteínas, la formación de HMF será mayor durante el proceso de horneado. Cabe destacar que los valores de HMF anteriores se encuentran dentro del promedio registrado en la literatura, para muestras de pan, el cual corresponde a valores entre 11,8 – 87,7 mg/Kg (Capuano & Fogliano, 2011).

#### 5.4 Cuantificación de AA

En la Tabla 9 se presentan los resultados del contenido de AA en pan tipo marraqueta, según las condiciones experimentales estudiadas.

**Tabla 9:** Cuantificación de AA para las muestras de marraqueta elaboradas con harina con distinto contenido proteico.

<i>Muestra de harina</i>	<i>Cantidad de AA Promedio ug/kg</i>
<b>HH</b>	96 <sup>a</sup> ± 7,9
<b>HSP</b>	56 <sup>b</sup> ± 2,5
<b>HSP 2</b>	95 <sup>a</sup> ± 0,0

Cantidad de AA promedio expresada como promedio ± desviación estándar. las réplicas de los promedios se muestran en anexo 10. Donde HH: Harina Hallulla; HSP: Harina Super Pan; HSP 2: Harina Super Pan 2. Superíndices indican la diferencia de medias en un nivel de confianza del 5%.

Las muestras elaboradas con HH y HSP2, presentaron un mayor contenido en AA, sin presentar diferencias significativas entre ellas. Mientras que las muestras elaboradas a partir de HSP presentaron un contenido de AA significativamente

menor con respecto a las muestras de HH y HSP2. Obteniendo un porcentaje de mitigación de un 42% del contenido de HMF.

Las muestras de HSP2, al tener un mayor contenido proteico, podrían presentar un mayor contenido de asparagina, por lo que esto favorecería la formación de AA durante el horneado, ya que los aminoácidos son precursores importantes en la reacción de Maillard. El contenido de AA de las muestras elaboradas con HH puede atribuirse a los azúcares totales de la harina, ya que, al contener una menor cantidad de proteína, la cantidad de almidón de esta harina es mayor el cual al ser hidrolizado forma dextrinas, y tanto los azúcares reductores como las proteínas, son de los principales precursores en la formación de AA, que favorecen la formación del producto de Amadori en la Reacción de Maillard. Igualmente, la cantidad de almidón dañado de cada harina incide en la reacción de Maillard, al facilitar el ataque de las enzimas en la molécula de almidón. Sin embargo, los valores de AA registrados en las tres muestras se encuentran dentro del promedio de contenido de AA registrado en la literatura, correspondiente a 136 ug/Kg, para muestras de pan (Capuano & Fogliano, 2011).

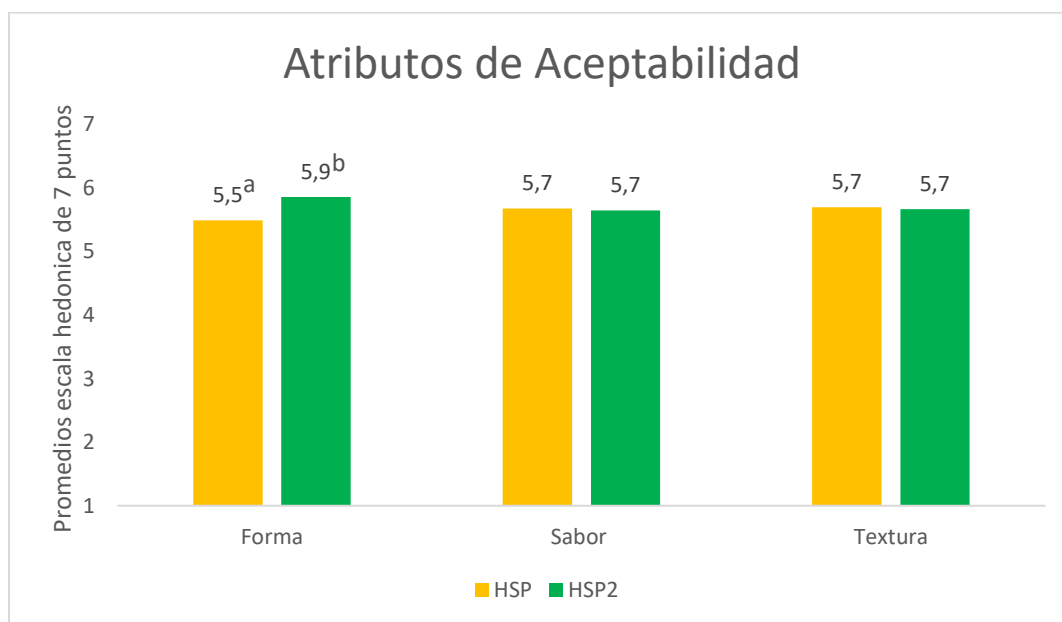
Por lo que, igualmente como ocurre con la formación de HMF, las muestras que presentaron una mayor concentración de AA fueron aquellas donde la cantidad de proteína y el contenido de azúcares totales es mayor.

## 5.5 Evaluación Sensorial

Para el desarrollo de la evaluación sensorial se reclutaron 37 estudiantes de los cuales 10 fueron hombres y 27 mujeres, entre 18 y 30 años que cumplieron con el filtro de consumo. A continuación, se muestran los resultados correspondientes al estudio realizado con consumidores, para las muestras elaboradas con HSP y HSP2, para atributos de aceptabilidad, justo agrado y preferencias.

### 5.5.1 Aceptabilidad por atributos

Se evaluó la aceptabilidad de los atributos forma, sabor y textura para ambas muestras, donde los resultados obtenidos se muestran en la Fig. 6, donde los datos para su elaboración fueron extraídos de las tablas que se muestran en el anexo 11.



En la gráfica, HSP 2: Harina Super Pan 2; HSP: Harina Super Pan. Superíndices distintos indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

#### Figura 6. Resumen de los resultados para los atributos de agrado

Según lo que se muestra en la figura 6, existen diferencias significativas entre muestras ( $p \leq 0,05$ ) solo en cuanto a la forma de la marraqueta, teniendo una mayor aceptación la muestra desarrollada con HSP2, esto podría deberse a que esta presenta una mayor fuerza panadera, por lo que su capacidad de retención de gas

al momento de la fermentación es mayor, lo que crea un pan con una miga más esponjosa y un mayor volumen de pan, y así dando un aspecto de pan más voluminoso como lo es la marraqueta tradicional (Magaña, 2011). Para los atributos de aceptabilidad de sabor y de textura, no se observan diferencias significativas entre ambas muestras, por lo que el tipo de harina no influye en la aceptabilidad de estos atributos, para muestras elaboradas a partir de la misma metodología.

### **5.5.2 Justo Agrado**

Se analizaron los atributos color de la corteza, color de la miga, intensidad de aroma, intensidad de sabor, sabor tostado, crujencia de la corteza, dureza de la corteza y esponjosidad de la miga. En aquellos atributos donde se observó diferencias significativas entre ambas muestras se incluyen los gráficos, para poder realizar un mejor análisis de los resultados. En la tabla 10, se incluyen los resultados en porcentajes por tramos agrupados de la escala, obtenidos para cada atributo evaluado.

**Tabla 10:** Tabla resumen de los porcentajes obtenidos en los tramos agrupados en la escala de justo agrado

<b>Atributos</b>	<b>HSP</b>			<b>HSP2</b>		
	<i>MuchoMenos /menos de lo que me gusta (%)</i>	<i>Justo como me gusta (%)</i>	<i>Mucho mas/más de lo que me gusta (%)</i>	<i>MuchoMenos/ menos de lo que me gusta (%)</i>	<i>Justo como me gusta (%)</i>	<i>Mucho mas/más de lo que me gusta (%)</i>
<b>Aroma de la marraqueta</b>	19 <sup>b</sup>	59	22	41 <sup>a</sup>	46	14
<b>Color de la corteza</b>	68 <sup>b</sup>	30	3 <sup>d</sup>	43 <sup>a</sup>	38	19 <sup>c</sup>
<b>Color de la miga</b>	11	70	19	11	78	11
<b>Intensidad de sabor</b>	43	35	22	32	43	24
<b>Sabor tostado</b>	46	51	3	51	43	5
<b>Crujencia de la corteza</b>	62	38	0	78	22	0
<b>Dureza de la corteza</b>	41	59 <sup>b</sup>	0	62	35 <sup>a</sup>	3
<b>Esponjosidad de la miga</b>	27	57	16	14	73	14

Superíndices distintos y números en rojo, indican diferencias significativas al 5%, entre cada muestra para cada tramo de la escala. Donde HSP: Harina Super Pan; HSP2: Harina Super Pan 2.

Para los atributos de color de la miga, intensidad de sabor, sabor tostado, crujencia de la corteza y esponjosidad de la miga no se encontraron diferencias significativas entre ambas muestras, estos atributos se discutirán a continuación, con excepción del atributo de crujencia, que se analizará en conjunto con el atributo de dureza más adelante.

En cuanto al color de la miga, no se observaron diferencias entre ambas muestras, obteniendo ambas muestras un justo agrado mayor a un 70%. Que no existan diferencias significativas, puede deberse a que ambas muestras fueron elaboradas mediante el mismo proceso de amasado, que es donde se ve mayormente afectado el color de la miga (Tejero, 2020), además, al ser ambas muestras de harina de trigo blanca, no se espera que tengan un color distinto en su miga.

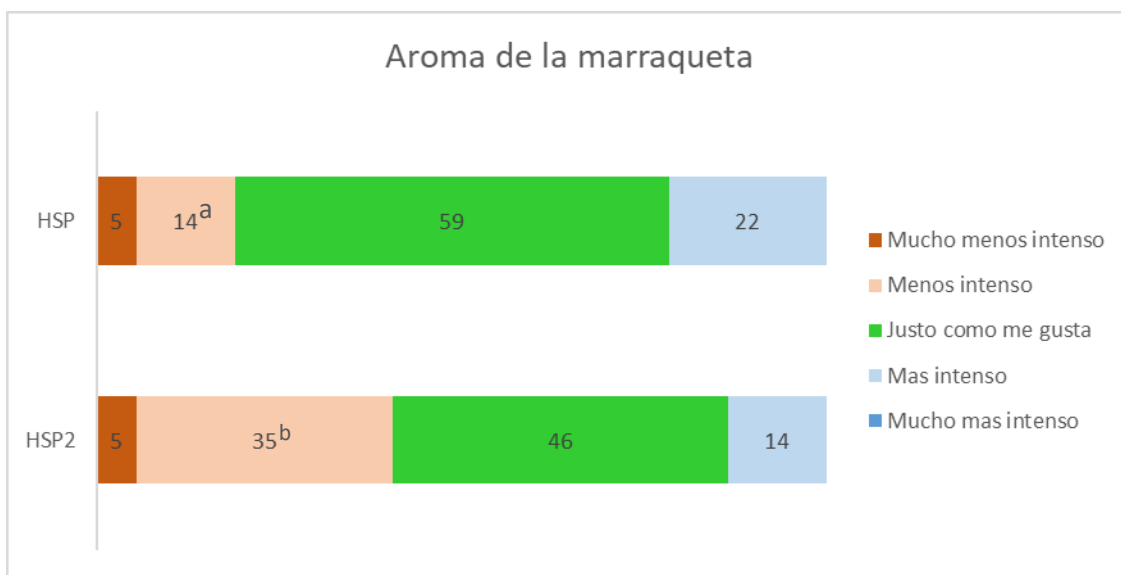


Para el atributo sabor se evaluó la intensidad de sabor y sabor a tostado de las marraquetas, en ambos casos no se obtuvieron diferencias significativas entre muestras para los tramos de la escala de justo agrado. En intensidad de sabor se obtuvo un porcentaje de justo agrado bajo para ambas muestras con una amplia dispersión, esto podría deberse a que algo en el sabor de las muestras de pan no era del agrado de los consumidores. En cuanto al sabor a tostado, en ambas muestras es mucho menos intenso de lo que esperan, esto podría ser consecuencia del proceso de horneado, quizás no se utilizó el tiempo adecuado para que se potenciarán adecuadamente los sabores durante la reacción de Maillard. Por otro lado, como ambas muestras presentaron un justo agrado bajo en estos atributos, podríamos decir que la cantidad de proteínas presentes en la harina no influye significativamente en el sabor del pan, para preparaciones elaboradas a partir de la misma metodología.

Para la esponjosidad de la miga, a pesar de no presentar diferencias significativas entre las muestras para ningún tramo en la escala de justo agrado, se puede observar una tendencia, ya que las marraquetas elaboradas a partir de HSP2 obtuvieron un justo agrado de un 73%, mientras que para las marraquetas con HSP obtuvieron un justo agrado de solo un 57%. Esto puede atribuirse a la mayor cantidad de proteína de HSP2, la cual presenta una fuerza panadera mayor y una mayor extensibilidad de la masa, permitiendo así formar una miga más alveolada y esponjosa debido a su mayor capacidad de retener gases por parte de las levaduras durante la fermentación de la masa (Magaña. 2011).

En cuanto a los atributos que presentaron diferencias significativas entre ambas muestras, se observa el análisis a continuación junto a sus respectivas gráficas, donde los resultados se encuentran expresado en porcentaje en cada gráfica.

- **Aroma**



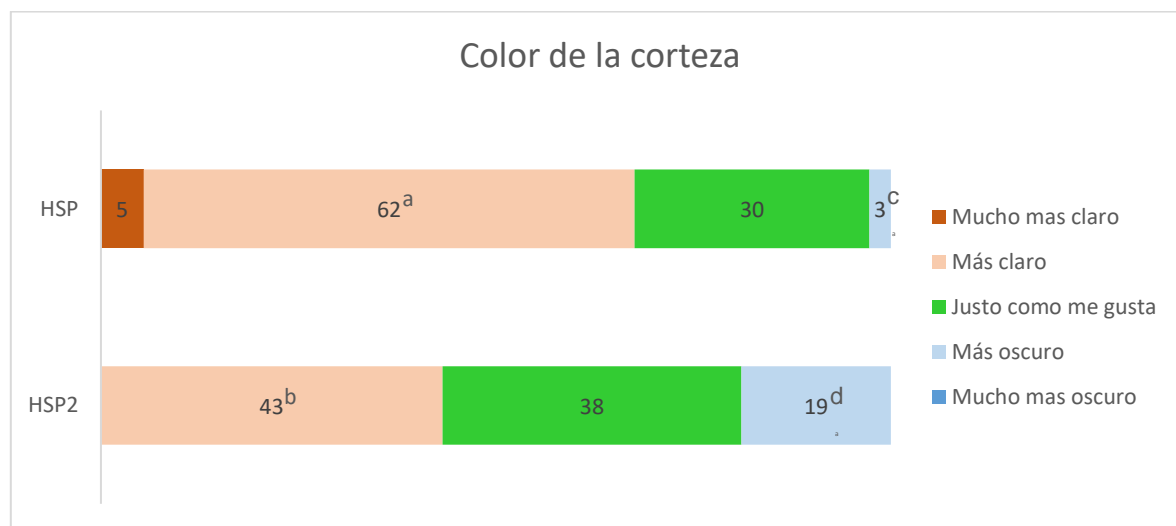
Superíndices distintos indican diferencias significativas al 5% entre las muestras para cada tramo de la escala usada.

**Figura 7.** Evaluación de la intensidad de aroma de las marraquetas elaboradas con las distintas harinas.

Para el atributo de intensidad de aroma, ninguna de las dos muestras logra ser totalmente satisfactoria para los consumidores, obteniendo la muestra de HSP un porcentaje algo mayor de justo agrado para los consumidores con un 59%, sin embargo, no es significativamente distinta al justo agrado de la muestra de HSP2, que solo obtuvo un 46%. La marraqueta elaborada con HSP2 presenta un aroma significativamente menos intenso de lo que les gusta a los consumidores con respecto a las marraquetas elaboradas con HSP, este resultado es distinto de lo esperado, ya que la muestra HSP2, al contener un mayor contenido de proteínas, debiese formar una mayor cantidad de compuestos aromáticos durante la reacción de Maillard. Los compuestos aromáticos del pan pueden aparecer en diferentes etapas de la elaboración de este producto; durante el amasado, los aromas se crean gracias a la actividad enzimática, en la fermentación de la masa se crean aromas fundamentales en la miga. Durante la cocción influye principalmente en el aroma de la corteza (Agroinformación, 2014), además el aroma de la corteza suele percibirse más intensamente que el aroma de la miga, sobre todo debido a la reacción de Maillard. Por lo que la intensidad del aroma puede deberse a etapas del proceso,

levaduras o la reacción Maillard. Sin embargo, ambas muestras fueron preparadas en base a la misma formulación, por lo que el aroma no pudo verse afectado por el proceso.

- **Color de la corteza**



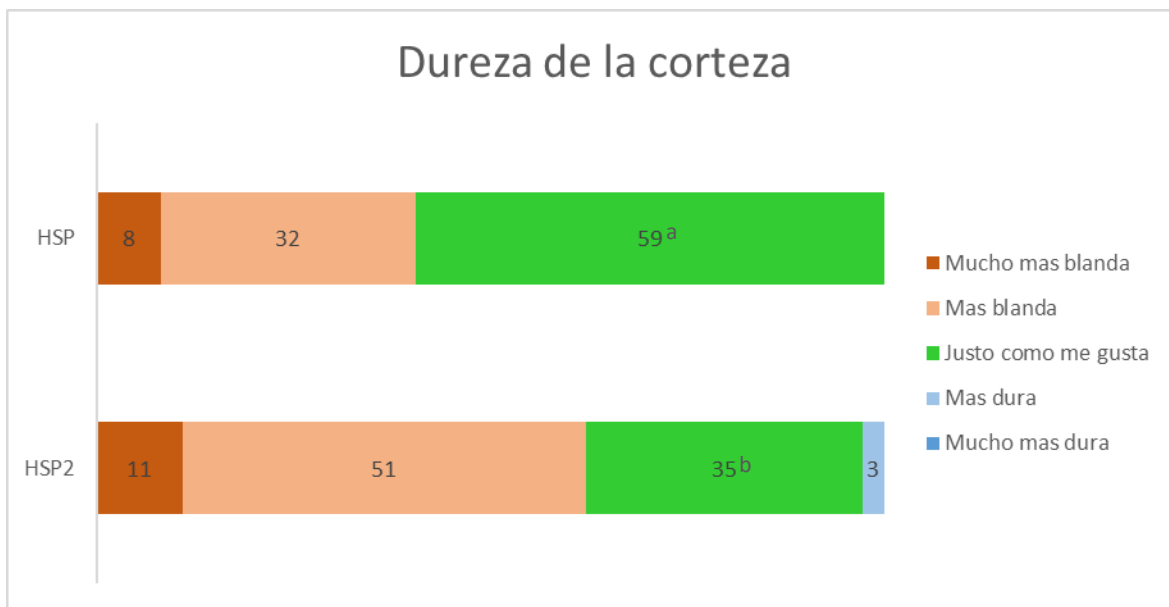
\* Superíndices distintos indican diferencias significativas al 5% entre las muestras para cada tramo de la escala usada.

**Figura 8.** Evaluación de la intensidad de color de la corteza de las marraquetas elaboradas con las distintas harinas

En cuanto al color de la corteza, ninguna de las dos muestras logra ser del agrado del consumidor, presentando ambas un justo agrado bajo, y siendo calificadas ambas como “más claras de los que me gusta”. Sin embargo, la muestra de HSP, es considerada más clara y mucho más clara de lo que les gusta por un 67% de los consumidores, en comparación con la HSP2, con un 43%. Esto puede deberse a que la muestra de HSP2 presenta un mayor contenido de proteínas, lo que favorece la reacción de Maillard, y a su vez, favorece la formación de los compuestos que dan el color característico a la corteza del pan, llamados melanoidinas (Ramírez, 2000), obteniendo así una corteza de color más intenso que las marraquetas elaboradas con HSP, que contienen una menor cantidad de proteínas.

- **Dureza de la corteza**

Para la dureza de la corteza si se evidenciaron diferencias significativas entre las muestras entre tramos para la escala de justo agrado.



Superíndices distintos indican diferencias significativas al 5% entre las muestras para cada tramo de la escala usada.

**Figura 9.** Evaluación de la dureza de la corteza de las marraquetas elaboradas con las distintas harinas.

La dureza de la corteza para la muestra elaborada a partir de HSP, presentó un justo agrado de casi un 60%, siendo significativamente mayor que el justo agrado de la HSP2 con un 35%. Esta última presenta además un 62% de consumidores que la consideran más blanda o mucho más blanda de lo que les gusta en comparación a un 40% en la HSP. La corteza de las marraquetas elaboradas a partir de HSP, presentaron una mayor dureza en su corteza que las elaboradas con HSP2. Esto se puede atribuir a que al contener una mayor fuerza panadera (W), la absorción de agua durante el proceso de amasado es mayor, necesitando un tiempo mayor de horneado para lograr que se evapore el agua de la superficie del pan, creando así una corteza de una menor dureza (Pan de Calidad, 2020). Otro factor que podría afectar la dureza de la corteza es la interacción entre el almidón y las

proteínas, ya que durante el almacenamiento ocurre pérdida de humedad en el pan, dada la migración de la humedad de la miga hacia la corteza. Como las muestras fueron preparadas un día antes, puede que la corteza se haya visto afectada a pesar de haber sido horneadas previamente, obteniéndose así porcentajes de justo agrado bajos para ambas muestras de marraqueta (Magaña 2011). Se observó una tendencia bastante parecida en el atributo de crujencia aunque sin diferencias significativas. En la tabla 10 podemos observar los porcentajes obtenidos para cada muestra. La muestra de HSP obtuvo un porcentaje de justo agrado de un 38%, algo mayor que la muestra de HSP2, la cual obtuvo un porcentaje de 22%, siendo esta última un 78% menos crujiente de lo que les gusta a los consumidores.

### 5.5.3 Preferencia y razones espontáneas de preferencia

Se evaluó la preferencia de los consumidores por cada una de las muestras evaluadas, donde los resultados obtenidos se muestran en la tabla 11.

**Tabla 11:** Preferencia de los consumidores para cada una de las muestras de marraqueta

<i>Muestra</i>	<i>N° de Preferencias</i>	<i>Porcentaje</i>
HSP	18	49%
HSP2	19	51%

Analizando los resultados mediante la tabla de mínimos juicios correctos (Anexo 12) para dos muestras, no existen diferencias significativas en cuanto a la preferencia de los consumidores por alguna de las muestras, por lo que el tipo de harina utilizado en este caso no influye en la preferencia de pan marraqueta para los consumidores.

Para el caso de las razones espontáneas de preferencia, se construyó un libro de códigos, y las respuestas fueron agrupadas y tabuladas como se muestra en la tabla 12, en la cual se incluyeron todos aquellos atributos con más de 10% de preferencia, la tabla completa con todas las respuestas se encuentra en el anexo 13.

**Tabla 12:** Análisis de las respuestas espontáneas acerca de razones de preferencia

<b>Atributo</b>	<b>HSP (N=16)</b>	<b>HSP 2 (N=17)</b>
<b>APARIENCIA</b>		
Corteza más tostada	13%	35%
Mejor apariencia	0%	18%
<b>AROMA</b>		
Característico	0% <sup>b</sup>	24% <sup>a</sup>
Menos intenso	0%	12%
<b>SABOR</b>		
Agradable/bueno	25%	24%
Sabor a pan tradicional/convencional	0%	18%
Sabor a marraqueta	13%	18%
Menos sabor a levadura	6%	12%
Más salado	6%	12%
Mejor Sabor	25%	12%
Sabor equilibrado	6%	12%
Sabor más intenso/más sabor	31% <sup>b</sup>	0% <sup>a</sup>
<b>TEXTURA</b>		
Miga más esponjosa	19%	24%
Agradable	6%	18%
Mas crujiente	25%	12%

Donde, HSPS 2: Harina Super Pan 2; HSP: Harina Super Pan. Superíndices distintos indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

Según la tabla 12, en cuanto al aroma, los consumidores encontraron en la muestra de HSP2, un aroma significativamente más característico que la muestra elaborada con HSP. A pesar de que la intensidad de aroma en la evaluación de justo agrado fue considerada menos intensa en las muestras de HSP2, el análisis de la pregunta abierta indica que su aroma es más característico a marraqueta. Lo anterior se podría atribuir a la reacción de Maillard debido a su mayor contenido de proteína y la incidencia de esto en la reacción.

Al analizar el sabor en la tabla 12, las muestras de HSP presentan mayor intensidad de sabor/más sabor con un 31%, mientras que esta respuesta no fue observada para la muestra de HSP2. Sin embargo, en la evaluación de justo agrado, no hubo diferencias significativas en la intensidad de sabor entre ambas muestras. Esto podría deberse a que al momento de escoger la preferencia por la muestra HSP2,

durante la respuesta espontanea, los consumidores consideraron otros atributos que se destacaban más por sobre la muestra HSP.

No se encontraron diferencias significativas entre ambas muestras en razones de preferencia para los atributos de textura y apariencia. Sin embargo, se observa una clara tendencia de muestra de HSP2 de presentar porcentajes más altos en cuanto a corteza más tostada y mejor apariencia con respecto a la muestra de HSP, esto se condice con los resultados de una mayor aceptabilidad para la forma de las marraquetas elaboradas con HSP2, y mejor justo agrado de la corteza para la misma muestra.

## **5.6 Neo-contaminantes y su relación con las características sensoriales**

En la tabla 13 se muestran aquellos atributos sensoriales en que se encontraron diferencias significativas entre ambas muestras en la evaluación con consumidores, la composición de las harinas y el contenido de neo-contaminantes obtenido.

**Tabla 13:** Relación de atributos sensoriales con cantidad de neo-contaminantes

<i>Tipo de harina</i>	<i>HSP</i>	<i>HSP2</i>
<b>Composición de las harinas (Ficha técnica proporcionada por Molino Linderos):</b>		
<b>Proteínas</b>	9,9 g/100g	10,0 g/100g
<b>Azúcares totales</b>	0,7 g/100g	0,7 g/100g
<b>Fuerza panadera (W)</b>	233 [10 <sup>-4</sup> J]	333 [10 <sup>-4</sup> J]
<b>Nivel de neo-contaminantes:</b>		
<b>HMF</b>	15,6 <sup>a</sup> mg/Kg	19,1 <sup>a</sup> mg/Kg
<b>Acrilamida</b>	56 <sup>a</sup> ug/kg	95 <sup>b</sup> ug/kg
<b>Atributos sensoriales:</b>		
<b>Aceptabilidad de Forma</b>	-	Mayor aceptación
<b>Esponjosidad de la miga*</b>	-	Miga más esponjosa
<b>Color de la corteza</b>	Menos intensa de lo que les gusta	-
<b>Intensidad de aroma</b>	-	Menos intenso de lo que les gusta
<b>Dureza de la corteza</b>	Mayor justo agrado	-

Donde HSP: Harina Super Pan, HSP2: Harina Super Pan 2. \*Este atributo solo fue en una tendencia presentada entre las muestras, no presentó diferencias significativas. Superíndices a y b, indican que existen diferencias significativas entre las medias en un nivel de confianza del 5%.

Para llevar a cabo una comparación completa entre las muestras analizadas se agruparon los resultados como se muestra en la tabla 13. En la cual sólo se incluyeron dos de las tres harinas utilizadas, ya que sólo se utilizaron las muestras de HSP y HSP2 para el análisis sensorial.

En la tabla 13, podemos observar parte de su composición, cantidad de proteínas y de azúcares totales, los cuales afectaron más directamente los resultados obtenidos en el estudio, y de los cuales solo se observan diferencias en la cantidad de proteínas entre ambos, donde la muestra de HSP se observa con un menor contenido de proteínas que HSP2. También se incluye la cantidad de neo-contaminantes (AA y HMF). Obteniéndose una cantidad significativamente menor



en cuanto al contenido de AA entre las muestras, mientras que, si bien el contenido de HMF fue menor para la muestra de HSP, no fue significativamente menor con respecto a HSP2.

Además, se observan los atributos sensoriales donde se obtuvieron diferencias significativas entre las muestras en el test con consumidores, tanto como para aceptabilidad y justo agrado, no se incluyen los porcentajes de preferencias ya que no hubo diferencias entre las muestras.

Las muestras de HSP, en cuanto a sus atributos sensoriales, presentaron una menor aceptación en cuanto a su forma característica y una miga menos esponjosa en comparación a las muestras elaboradas con HSP2, esto debido principalmente a su menor nivel de proteínas de gluten, relacionado con la fuerza panadera. Por otro lado, las muestras de HSP también presentaron una menor intensidad del color de la corteza con respecto a HSP2, siendo aquí en la corteza donde se concentran el mayor contenido de neo-contaminantes formados durante el proceso de horneado. Este resultado se condice con la menor cantidad de neo-contaminantes encontrados en la muestra HSP con respecto a las muestras elaboradas con HSP2, ya que estas muestras, HSP, presentaron un color menos intenso de corteza, lo que se relaciona con un menor desarrollo de pigmentos oscuros producidos durante la reacción Maillard, de la cual, uno de sus principales precursores son las proteínas.

El hecho que el contenido de azúcares sea el mismo en ambas muestras sugiere que el único factor que se encuentra relacionado con la cantidad de pigmentos oscuros, en este caso, es la diferencia en su composición de proteínas. Sin embargo, si se hubiesen presentado en la evaluación muestras elaboradas a partir de HH, su mayor contenido de azucares y su contenido proteico, hubiesen influido en el color de la corteza de las muestras, presentándose muestras con un color de corteza más intenso.

Por otro lado, cabe mencionar, que el atributo de color de la corteza presentó un bajo porcentaje de justo agrado para ambas muestras, siendo ambas muestras más claras de lo que les gusta a los consumidores, por lo que se podría pensar que el tiempo de horneado no fue el adecuado para las muestras de pan marraqueta, pero

al aumentar el tiempo de horneado, se obtendría una mayor concentración de neo-contaminantes.

En cuanto a las preferencias de los consumidores, al no existir diferencias significativas entre las muestras HSP y HSP2, utilizar una harina con un contenido proteico intermedio, fuerza panadera intermedia y una baja cantidad de azúcares totales en la elaboración de pan marraqueta, ayudará a disminuir la cantidad de neo-contaminantes formados durante el horneado sin ver realmente afectadas sus características sensoriales. Todo esto considerando el proceso de elaboración utilizado en este estudio.

## 6. CONCLUSIONES

- Se logró estandarizar una formulación para la elaboración de pan marraqueta mediante el análisis de sus características reológicas.
- Al relacionar el contenido proteico y azúcares totales con la concentración de neo-contaminantes en las muestras de harina analizadas, se concluye que un alto contenido de proteínas y de azúcares totales favorece la formación de neo-contaminantes durante el horneado.
- El test de consumidores no evidenció diferencias significativas en preferencia ni en aceptabilidad general entre las muestras HSP y HSP 2. Sin embargo, se observaron diferencias en ciertos atributos dependiendo de la harina utilizada. Ajustar el proceso de elaboración para mejorar estas características es necesario para obtener un mayor justo agrado y aceptabilidad.
- Utilizar harinas con un contenido intermedio de proteínas, fuerza panadera intermedia, bajos azúcares totales, y con un proceso de horneado adecuado, reduce la cantidad de AA hasta en un 42% y la cantidad de HMF hasta en un 39%, formados durante el proceso de horneado, sin afectar significativamente la aceptabilidad general y preferencia por parte de los consumidores habituales de pan.
- A través del estudio realizado se acepta la hipótesis planteada que indica que la concentración de neo-contaminantes formados varía según la composición de la harina utilizada.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Agroinformación. (2014). El aroma del pan es uno de los elementos más importante que incita a la compra. < <https://agroinformacion.com/el-aroma-del-pan-es-uno-de-los-elementos-mas-importante-que-incita-a-la-compra-2/>> [Consulta: Julio 2022]
- Ameer, L. A., Trystram, G., Birlouez-Aragon, I. (2006). Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the baking process: Validation of an extraction method. *Food Chemistry*, 98(4), 790–796.
- BAM Consultores. (2016). Análisis de harina. [En línea]. <[https://bamconsultores.com/index.php/home/analisis\\_harina](https://bamconsultores.com/index.php/home/analisis_harina)> [Consulta: Marzo 2022]
- Barrios, Y., Pedreschi, F., Rosowski, J., Gómez, J., Figari, N., Castillo, O. & Mariotti, M. (2021). Is the dietary acrylamide exposure in Chile a public health problem?. *Food additives & contaminants: Part A*. 38(7), 1126–1135.
- Barrios, Y., Gutiérrez, N., Pedreschi, F. & Mariotti, M. (2022). Rational design of technologies for the mitigation of neo-formed contaminants in roasted coffee. *Trends in Food Science & Technology* 120 (2022) 223-2.
- Capuano, E., Ferrigno, A., Acampa, L., Serpen, A., Acar, O., Gokmen, V., Fogliano, V. (2009). Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. *Food Research International* 42, 1295–1302.
- Capuano, E. & Fogliano, V. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4), 793–810.
- Ciesarova, Z.; Kiss, E, Boegl, P. (2006). Impact of L-asparaginase on acrylamide content in potato products. *Journal of Food and Nutrition Research*. 45, 141-146
- Codex Alimentarius (2009). Código de prácticas para reducir el contenido de acrilamida en los alimentos. 1-12.
- Codex Alimentarius (1985) STAN 152. Norma del codex para la harina de trigo. 1-2.

- De la Horra, A., Seghezze, M. L., Molfese, E., Ribotta, P. D., León, A. E. (2012). Indicadores de calidad de las harinas de trigo: índice de calidad industrial y su relación con ensayos predictivos. *AgriScientia*, 29(2), 81–89.
- Echerverri, M., Jaramillo, L., Quiroz, J. (2014). Acrilamida: Formación y mitigación en procesamiento industrial de alimentos. Memoria de título, Especialista en alimentación y nutrición. Antioquia, Colombia. Corporación Universitaria Lasallista. 47 h.
- Ehrenfeld, D. (2013). Desarrollo de pan tipo marraqueta y hallulla con incorporación de harina de bagazo de uva. Memoria de título, Ingeniero en Alimentos. Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Fálder, A. Trigo, harina y pan. Distribución y Consumo. 125-133, Noviembre-Diciembre. 2002.
- Farías, C., Espinoza, A., Fernández, G. (2019). Análisis del comportamiento reciente del precio de la harina de panificación. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 1-42.
- FECHIPAN. (2019). Reseña del sector productivo de la panadería tradicional. [En línea] < <http://www.fechipan.cl/index.php/resena-del-sector-productivo-de-la-panaderia-tradicional/> > [Consulta: abril 2020]
- Finnie, S., Atwell, W. (2017). *Wheat Flour*. 2nd Edition. Elsevier. 164p.
- García Cayetano. (2020). Interpretación del alveograma. [En línea] <<https://www.cayetanogarcia.net/interpretacion-del-alveograma/>> [Consulta: Marzo 2022]
- Halford, N. Curtis, T., Muttucumaru, N., Postles, J., Elmore, J., Mottram, D. (2012). The acrylamide problem: a plant and agronomic science issue. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 63, No. 8, pp. 2841–2851.
- Lea, P. J., Sodek, L., Parry, M. A. J., Shewry, P. R., Halford, N. G. (2007). Asparagine in plants. *Annals of Applied Biology*, 150(1), 1-26.
- Magaña, E., Ramírez, B., Torres, P., Sánchez, D., López, J. (2011). Efecto del contenido de proteína grasa y levadura en las propiedades viscoelásticas de la masa y la calidad de pan tipo francés. *Interciencia*, vol. 36, No. 4, pp. 248-255.

- Marín, J, (2017), Minimización del contenido de sal en pan marraqueta y la influencia de ésta en sus propiedades sensoriales y desarrollo de neo-contaminantes, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Masa Mater. (2020). Todo lo que deberías saber sobre la fuerza de las harinas. [En línea] <<https://masamater.com/la-fuerza-de-las-harinas-todo-lo-que-deberias-saber/?v=bc78a8d162c6>> [Consulta: Marzo 2022]
- Mikhaylenko, G. G., Czuchajowska, Z., Baik, B.-K., Kidwell, K. K. (2000). Environmental Influences on Flour Composition, Dough Rheology, and Baking Quality of Spring Wheat. *Cereal Chemistry Journal*, 77(4), 507–511.
- Mesas, J., Alegre, M. (2002). El pan y su proceso de elaboración. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, vol. 3, núm. 5, pp. 307-313.
- Mesias, M., Morales, F. J. (2016). Acrylamide in Bakery Products. *Acrylamide in Food*, 131–157.
- Molino Linderos. (2021). Clasificación de las harinas. [En línea] <<https://www.molinolinderos.cl/blog/>> [Consulta: Marzo, 2022]
- Monleón, T. & Collado, M. (2008). Calidad industrial del trigo y la harina. *Alimentación* (238) 50-53.
- Norouzi, E., Kamankesh, M., Mohammadi, A., Attaran, A. (2018). Acrylamide in bread samples: Determining using ultrasonic-assisted extraction and microextraction method followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Cereal Science* 79, 1-5.
- Pedreschi, F., Saavedra, I., Bungler, A., Zuñiga, R., Pedreschi, R., Chirinos, R., Campos, D. Mariotti, M.S. (2018). Tara pod (*Caesalpinia spinosa*) extract mitigates neo-contaminant formation in Chilean bread preserving their sensory attributes. *LWT - Food Science and Technology* 95, 116–122.
- ODEPA. (2019). Análisis del comportamiento reciente del precio de la harina de panificación. [en línea] <[https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2019/02/articulo-harina\\_trigo2019.pdf](https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2019/02/articulo-harina_trigo2019.pdf)> [Consulta: Mayo, 2022]
- Pan batido. (2021). Receta pan batido. <<https://drive.google.com/file/d/1zxY1kvNBizvK-8M17mj7rcjo4EQ9IAOV/view>> [Consulta: Septiembre, 2021]

- Pan de Calidad. (2020). LA corteza del pan. [En línea] < <https://pandecalidad.com/la-corteza-del-pan>> [Consulta: Julio, 2022]
- Peña, D. (2017). Caracterización de la Composición Nutricional del Pan (Hallulla y Marraqueta) de la Región de Los Ríos. Memoria de título, Ingeniero en Alimentos. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. 60 h.
- Plaza, C. (2015). Reducción del contenido de acrilamida en pan tipo hallulla mediante la incorporación de asparaginasa. Memoria de título, Ingeniero en Alimentos Santiago, Chile. Universidad de Chile. 82 h.
- Ramírez A., Guerra E., García B. (2000). Browning indicators in bread. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4176–4181.
- Reglamento Sanitario de los Alimentos (2019). Párrafo II De las harinas. Artículo 347, Artículo 349, Artículo 350. Ministerio de Salud. República de Chile.
- Reglamento Sanitario de los Alimentos (2019). Párrafo III Del pan y de los productos de pastelería y repostería. Artículo 356, Artículo 357. Ministerio de Salud. República de Chile.
- Rosatella, A. A., Simeonov, S. P., Frade, R. F. M., Afonso, C. A. M. (2011). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) as a building block platform: Biological properties, synthesis and synthetic applications. *Green Chemistry*, 13(4), 754.
- Tejero. Francisco. (2020). Factores determinantes del color y alveolado del pan. [En línea] < <http://www.franciscotejero.com/tecnicas/factores-determinantes-del-color-y-alveolado-del-pan/>> [Consulta: 07 de Julio 2022]
- Toker. S, M. Dogan, Erzos. N, Yilmaz. M (2013). Optimization of the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) formed in some molasses types: HPLC-DAD analysis to determine effect of different storage time and temperature levels. *Industrial Crops and Products*. 50, 137– 144.
- Troise. A & Fogliano. V. (2013). Reactants encapsulation and Maillard Reaction. *Trends in Food Science & Technology* 33, 63 -74.
- Valenzuela, R., Ronco, A. (2007). Acrilamida en los alimentos. *Rev Chil Nutr* Vol. 34, N°1.
- Van Der Fels, H.J., Capuano, E., Nguyen, H.T., Atac Mogol, B., Kocadağlı, T., Göncüoğlu Taş, N. (2014). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation

during baking of biscuits: NaCl and temperature–time profile effects and kinetics. *Food Research International* 57, 210–217.

- Van Putten, R.-J., van der Waal, J. C., de Jong, E., Rasrendra, C. B., Heeres, H. J., de Vries, J. G. (2013). Hydroxymethylfurfural, A Versatile Platform Chemical Made from Renewable Resources. *Chemical Reviews*, 113(3), 1499–1597.
- Zhang, Y., Zhang, Y. (2007). Formation and Reduction of Acrylamide in Maillard Reaction: A Review Based on the Current State of Knowledge. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(5), 521–542.
- Zhaof, M., Wang,P., Li,D., Shang,J., Hu,X., Chen,F. (2017). Protection against neo-formed contaminants (NFCs)-induced toxicityby phytochemicals. *Food and Chemical Toxicology* 108, 392-406.
- Žilić,S., Aktağ,I., Dodig,D., Filipović, M., Gokmen,V.(2020). Acrylamide formation in biscuits made of different wholegrain flours depending on their free asparagine content and baking conditions. *Food Research International* 132, 109109.



## 8. ANEXOS

**Anexo 1:** Composición analítica de la harina y sus componentes principales.

Property	Percent
Moisture	14 (of flour)
Protein	7–15 (of flour)
Osborne classification	
Albumins	15 (of protein)
Globulins	3 (of protein)
Prolamin (gliadin)	33 (of protein)
Glutelin (glutenin)	16 (of protein)
Residue	33 (of protein)
Gluten	6–13 (of flour)
Gliadin	30–45 (of gluten)
Glutenin	55–70 (of gluten)
Starch	63–72 (of flour)
Amylopectin	75 (of starch)
Amylose	25 (of starch)
Nonstarchy polysaccharides	4.5–5.0 (of flour)
Pentosans/hemicellulose	67 (of NSP)
Insoluble	67 (of pentosans/hemicellulose)
Soluble	33 (of pentosans/hemicellulose)
Beta-glucans	33 (of NSP)
Lipids	2–3 (of flour)
Polar	75 (of lipids)
Nonpolar	25 (of lipids)

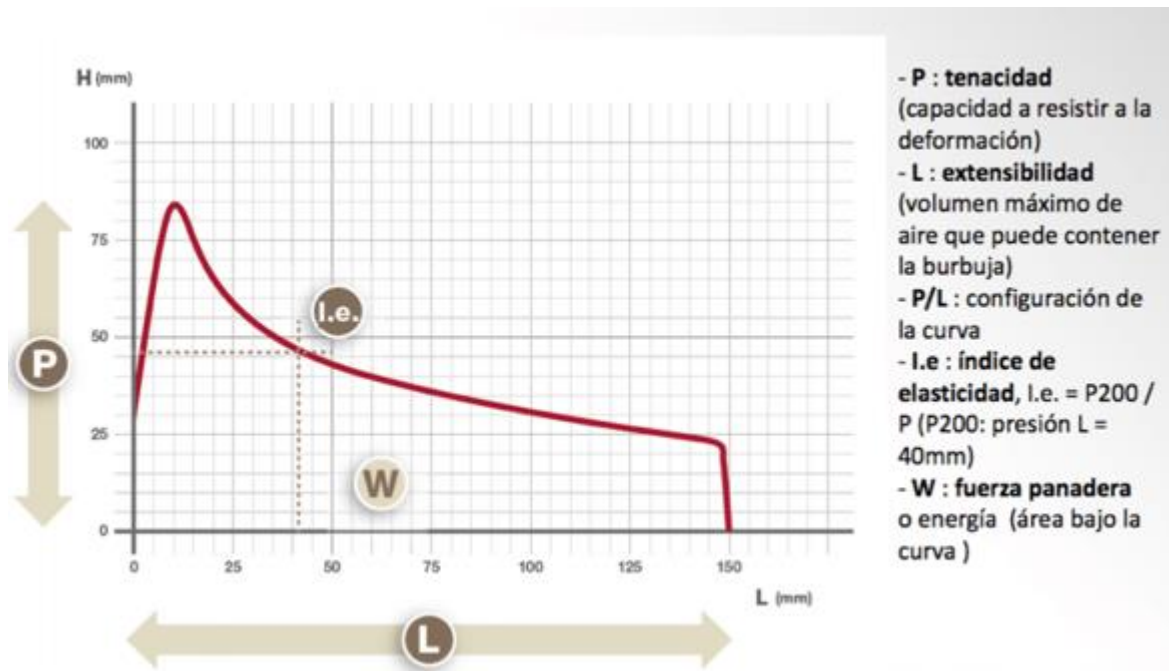
Fuente: (Finnie & Atwell, 2017)

**Anexo 2:** Composición aminoacídica, agrupados por carga e hidrofobicidad

Acidic	Basic	Neutral (Hydrophilic)	Neutral (Hydrophobic)
Glutamic acid	Lysine	Glutamine	Valine
Aspartic acid	Histidine	Asparagine	Leucine
	Arginine	Serine	Isoleucine
	Tryptophan	Threonine	Alanine
			Phenylalanine
			Tyrosine
			Cysteine
			Cystine
			Proline
			Methionine
			Glycine

Fuente: (Finnie & Atwell, 2017)

**Anexo 3:** Alveograma, correspondiente a la curva del alveógrafo.



**Anexo 4:** Niveles de AA en diferentes productos alimenticios

Acrylamide levels ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )<sup>a</sup> in different food commodities (EFSA, 2009).

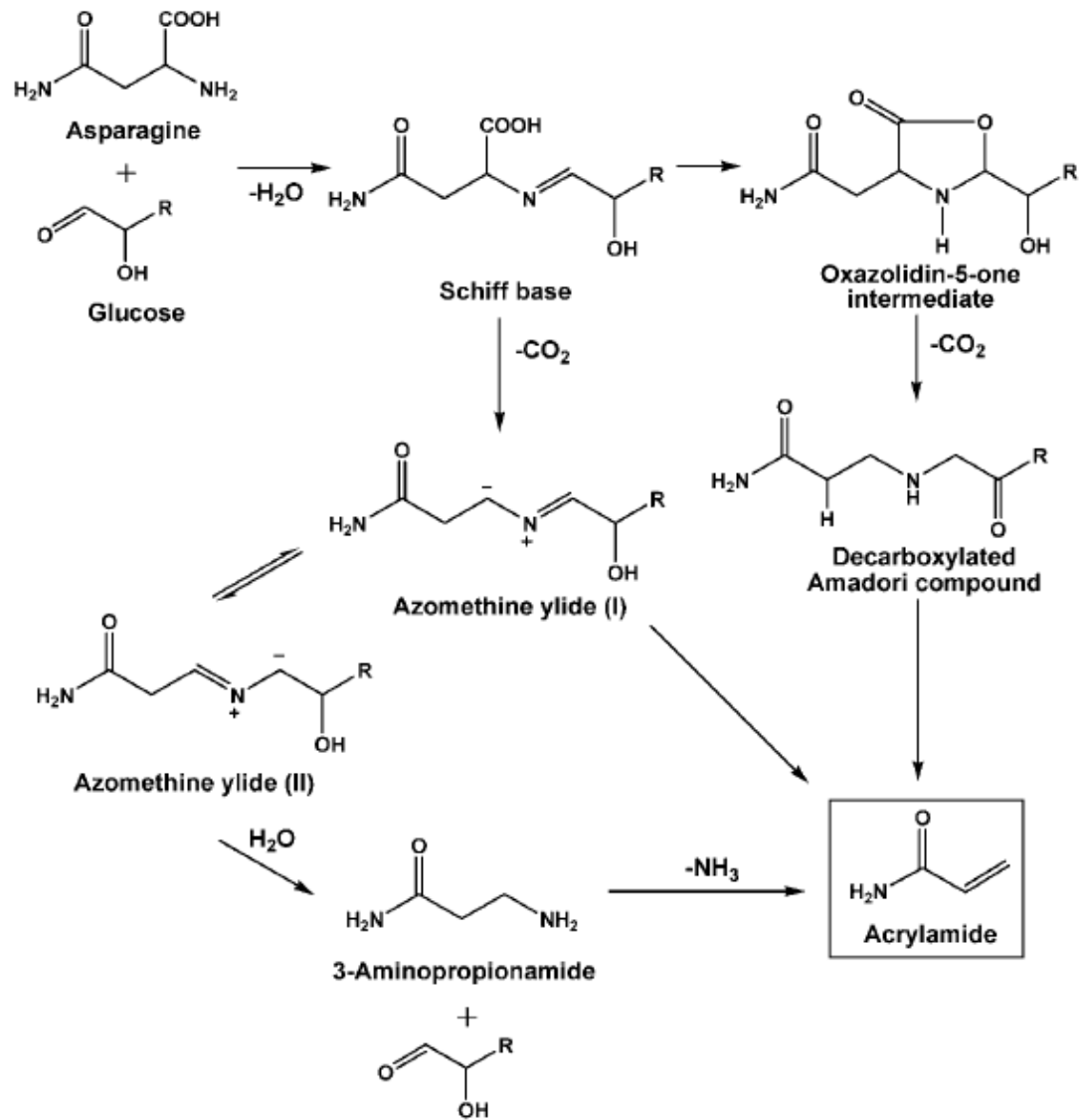
Food commodities	N <sup>b</sup>	Median	Mean	Maximum
Biscuits	227	169	317	4200
Bread	272	50	136	2430
Breakfast cereals	128	100	156	1600
Cereal-based baby foods	76	42	74	353
Coffee	208	188	253	1158
French fries	529	253	350	2668
Jarred baby foods	84	31	44	162
Other products	854	169	313	4700
Potato crisps	216	490	628	4180
Home cook potato products	121	150	319	2175

<sup>a</sup> Values below LOD and values between LOD and LOQ were set to the LOD or the LOQ value, respectively.

<sup>b</sup> Number of individual data analyzed for each food category.

(Capuano & Fogliano, 2011)

**Anexo 5:** Vías de formación de AA a partir de asparagina (Zhang et al, 2009).



## **Anexo 6:** Niveles de HMF en diferentes productos alimenticios

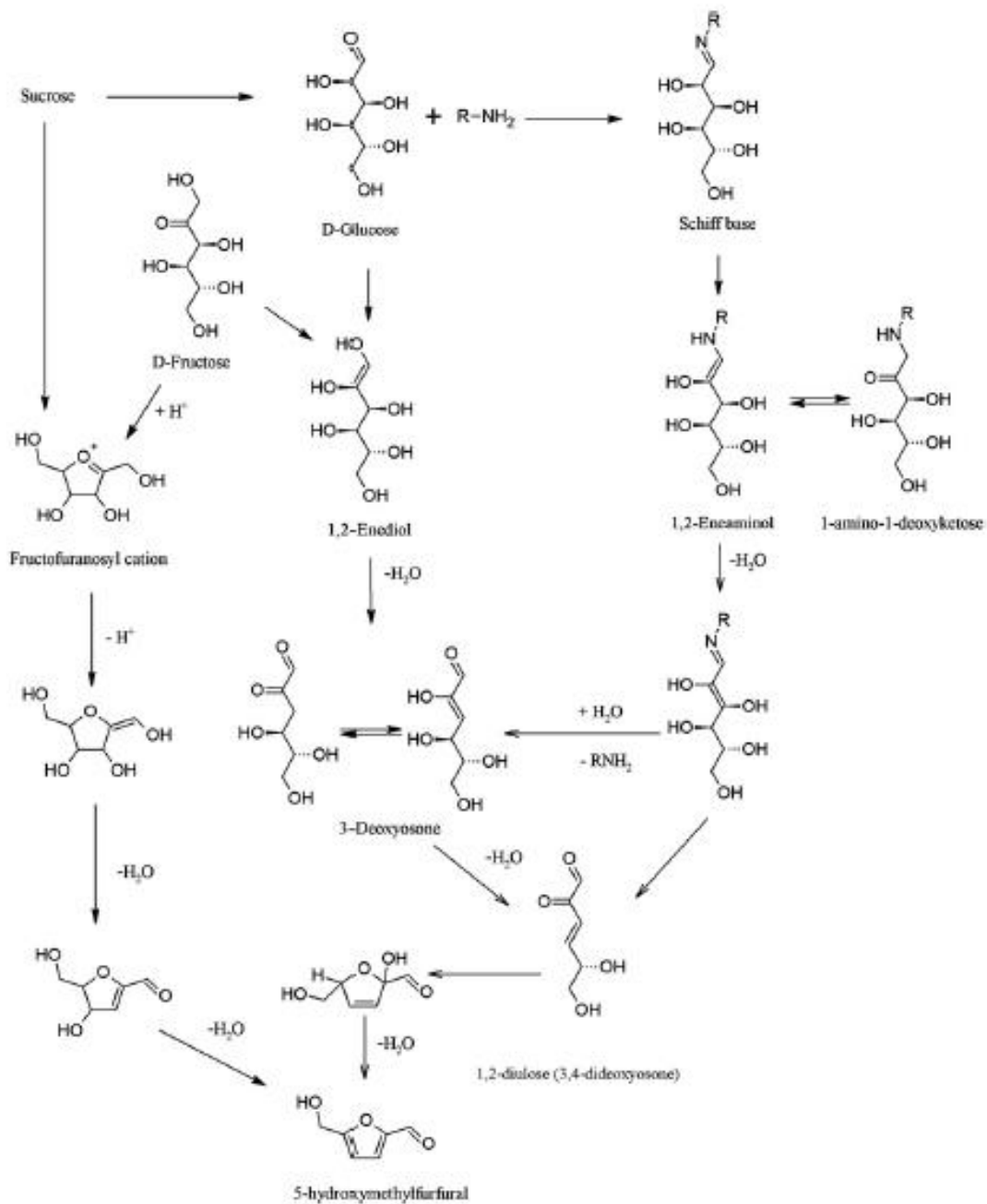
HMF content of selected food products.

Food commodities	HMF content (mg/kg) <sup>a</sup>	Reference
Coffee	100–1900	Kanjahn, Jarms, and Maier (1996); Murkovic and Pichler (2006)
Coffee (instant)	400–4100	Kanjahn et al. (1996); Smith (1981)
Coffee (decaffeinated)	430–494	Kanjahn et al. (1996)
Chicory	200–22500	Kanjahn et al. (1996)
Malt	100–6300	Kanjahn et al. (1996)
Barley	100–1200	Kanjahn et al. (1996)
Honey	10.4–58.8	Lo Coco, Valentini, Novelli, and Ceccon (1995); Zappalà et al. (2005)
Beer	3.0–9.2 <sup>a</sup>	Yuan and Chen (1998)
Jam	5.5–37.7	Rada-Mendoza et al. (2004, 2002)
Fruit juices	2.0–22.0	Kim and Richardson (1992); Yuan and Chen (1998)
Wine (red)	1.0–1.3 <sup>a</sup>	Yuan and Chen (1998)
Cookies	0.5–74.5	Ait-Ameur et al. (2007)
Bread (white)	3.4–68.8	Ramírez-Jiménez, García-Villanova, et al. (2000); Ramírez-Jiménez, Guerra-Hernández, et al. (2000)
Bread (crust)	11.8–87.7	Ramírez-Jiménez, García-Villanova, et al. (2000); Ramírez-Jiménez, Guerra-Hernández, et al. (2000)
Bread (snacks)	2.2–10.0	Ramírez-Jiménez, García-Villanova, et al. (2000); Ramírez-Jiménez, Guerra-Hernández, et al. (2000)
Breakfast cereals	6.9–240.5	Rufian-Henares, Delgado-Andrade, and Morales (2006)
Baby food (milk-based)	0.18–0.25	Gökmen and Senyuva (2006a, 2006b)
Baby food (cereal-based)	0–57.18	Gökmen and Senyuva (2006a, 2006b)
Dried fruits	25–2900	Bachmann, Meier, and Kaenzig (1997)
Roasted almond	9	Bachmann et al. (1997)
Vinegar (wine)	0–21.5 <sup>a</sup>	Theobald et al. (1998)
Vinegar balsamic	316.4–35,251.3 <sup>a</sup>	Theobald et al. (1998)

<sup>a</sup> mg/L.

(Capuano & Fogliano, 2011)

**Anexo 7:** Esquema de vías propuestas para la formación de HMF (Capuano & Fogliano, 2011)



**Anexo 8:** Cuestionario completo utilizado en la evaluación con consumidores.

**Test de consumidores para pan tipo marraqueta**

Nombre:

---

En la siguiente tabla marque con una cruz en el rango de edad que se encuentra:

Edad	18 – 25 años	<input type="checkbox"/>
	26 – 30 años	<input type="checkbox"/>
	31 – 35 años	<input type="checkbox"/>
	Más de 35 años	<input type="checkbox"/>

Marque con una cruz según corresponda:

Género	Hombre	<input type="checkbox"/>
	Mujer	<input type="checkbox"/>
	Prefiero no responder	<input type="checkbox"/>

Indique a cuál de los siguientes grupos pertenece:

Funcionario	<input type="checkbox"/>
Académica	<input type="checkbox"/>
Estudiante	<input type="checkbox"/>
Otro	<input type="checkbox"/>

1. Indique con qué frecuencia consume pan. Marque una sola alternativa:

<b>Frecuencia</b>	<b>Marque con una cruz</b>
Más de una vez al día	
Una vez al día	
3 veces por semana	
2 veces por semana	
1 vez al mes	
Nunca	

2. ¿Usted consume habitualmente alguno de estos tipos de pan? Puede marcar más de una opción:

<b>Tipo de producto</b>	<b>Marque con una cruz</b>
Pan de molde	
Marraqueta	
Hallulla	
Pan pita	
Pan integral	
Otro	

Incluir en el test solamente las personas que consumen pan al menos 1 vez por semana, y que habitualmente consumen marraqueta.

### **MUESTRA 560**

**Observé cuidadosamente la muestra completa de marraqueta que se encuentra delante y evalúe los siguientes atributos marcando la alternativa de su agrado. Marque solo una alternativa.**

**1. Que le parece la forma característica de la marraqueta.**

Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho

**2. Como encuentra el color de la de la corteza**

Muchos más claro de lo que me gusta	Más claro de lo que me gusta	Justo como me gusta	Mas oscuro de lo que me gusta	Muchos más oscuro de lo que me gusta

**A continuación, tome el trozo de la muestra que se le fue otorgada y ábrala cuidadosamente con las manos. Observe detenidamente el interior del pan, y sienta los aromas, luego conteste lo siguiente:**

**3. Que le parece el color de la miga.**

Mucho más claro de lo que me gusta	Más claro de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más oscuro de lo que me gusta	Mucho más oscuro de lo que me gusta

**4. Como encuentra el aroma de la marraqueta.**

Mucho menos intenso de lo que me gusta	Menos intenso de lo que me gusta	Justo como me gusta	Mas intenso de lo que me gusta	Mucho más intenso de lo que me gusta



Tome unos sorbos de agua y pruebe la marraqueta, luego evalúe los siguientes atributos según corresponda, la alternativa que mejor describa los siguientes atributos. Marque solo una alternativa.

**5. Que le parece el sabor general de la marraqueta.**

Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho

**6. Como encuentra la intensidad del sabor.**

Mucho menos intenso de lo que me gusta	Menos intenso de lo que me gusta	Justo como me gusta	Mas intenso de lo que me gusta	Mucho más intenso de lo que me gusta

**7. Que le parece el sabor a tostado.**

Mucho menos intenso de lo que me gusta	Menos intenso de lo que me gusta	Justo como me gusta	Mas intenso de lo que me gusta	Mucho más intenso de lo que me gusta

**8. Como encuentra la textura general (miga y corteza en conjunto)**

Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho

**9. Como encuentra la crujencia de la corteza.**

Mucho menos crujiente de lo que me gusta	Menos crujiente de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más crujiente de lo que me gusta	Mucho más crujiente de lo que me gusta

**10. Que le parece la dureza de la corteza.**

Mucho más blanda de lo que me gusta	Mas blanda de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más dura de lo que me gusta	Mucho más dura de lo que me gusta

**11. Que le parece la esponjosidad de la miga.**

Mucho menos esponjosa de lo que me gusta	Menos esponjosa de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más esponjosa de lo que me gusta	Mucho más esponjosa de lo que me gusta

**Marque con una cruz, todos los atributos que mejor describan la muestra que probó. Puede probarla nuevamente si desea.**

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Sabor a levadura     | <input type="checkbox"/> Corteza dura            |
| <input type="checkbox"/> Agradable en general | <input type="checkbox"/> Sabor salado            |
| <input type="checkbox"/> Sabor insípido       | <input type="checkbox"/> Corteza blanda          |
| <input type="checkbox"/> Miga esponjosa       | <input type="checkbox"/> Desagradable en general |
| <input type="checkbox"/> Superficie lisa      | <input type="checkbox"/> Aroma a pan             |
| <input type="checkbox"/> Miga compacta        | <input type="checkbox"/> Superficie agrietada    |
| <input type="checkbox"/> Corteza Dorada       | <input type="checkbox"/> Sabor a pan             |
| <input type="checkbox"/> Corteza Crujiente    | <input type="checkbox"/> Falta sal               |
| <input type="checkbox"/> Corteza muy clara    |  |

Una vez finalizada la evaluación de la muestra solicite la siguiente.

**MUESTRA 613**

Observé cuidadosamente la muestra completa de marraqueta que se encuentra delante y evalué los siguientes atributos marcando la alternativa de su agrado. Marque solo una alternativa.

**12. Que le parece la forma característica de la marraqueta.**

Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho

**13. Como encuentra el color de la de la corteza**

Muchos más claro de lo que me gusta	Más claro de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más oscuro de lo que me gusta	Muchos más oscuro de lo que me gusta

A continuación, tome el trozo de la muestra que se le fue otorgada y ábrala cuidadosamente con las manos. Observe detenidamente el interior del pan, y sienta los aromas, luego conteste lo siguiente:

**14. Que le parece el color de la miga.**

Mucho más claro de lo que me gusta	Más claro de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más oscuro de lo que me gusta	Mucho más oscuro de lo que me gusta

**15. Como encuentra el aroma de la marraqueta.**

Mucho menos intenso de lo que me gusta	Menos intenso de lo que me gusta	Justo como me gusta	Mas intenso de lo que me gusta	Mucho más intenso de lo que me gusta

**Tome unos sorbos de agua y pruebe la marraqueta, luego evalúe los siguientes atributos según corresponda, la alternativa que mejor describa los siguientes atributos. Marque solo una alternativa.**

**16. Que le parece el sabor general de la marraqueta.**

Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho

**17. Como encuentra la intensidad del sabor.**

Mucho menos intenso de lo que me gusta	Menos intenso de lo que me gusta	Justo como me gusta	Mas intenso de lo que me gusta	Mucho más intenso de lo que me gusta

**18. Que le parece el sabor a tostado.**

Mucho menos intenso de lo que me gusta	Menos intenso de lo que me gusta	Justo como me gusta	Mas intenso de lo que me gusta	Mucho más intenso de lo que me gusta

**19. Como encuentra la textura general (miga y corteza en conjunto)**

Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho

**20. Como encuentra la crujencia de la corteza.**

Mucho menos crujiente de lo que me gusta	Menos crujiente de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más crujiente de lo que me gusta	Mucho más crujiente de lo que me gusta

**21. Que le parece la dureza de la corteza.**

Mucho más blanda de lo que me gusta	Más blanda de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más dura de lo que me gusta	Mucho más dura de lo que me gusta

**22. Que le parece la esponjosidad de la miga.**

Mucho menos esponjosa de lo que me gusta	Menos esponjosa de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más esponjosa de lo que me gusta	Mucho más esponjosa de lo que me gusta

**Marque con una cruz, todos los atributos que mejor describan la muestra que probó. Puede probarla nuevamente si desea.**

- |                          |                      |                          |                         |
|--------------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------|
| <input type="checkbox"/> | Sabor a levadura     | <input type="checkbox"/> | Corteza dura            |
| <input type="checkbox"/> | Agradable en general | <input type="checkbox"/> | Sabor salado            |
| <input type="checkbox"/> | Sabor insípido       | <input type="checkbox"/> | Corteza blanda          |
| <input type="checkbox"/> | Miga esponjosa       | <input type="checkbox"/> | Desagradable en general |
| <input type="checkbox"/> | Superficie lisa      | <input type="checkbox"/> | Aroma a pan             |
| <input type="checkbox"/> | Miga compacta        | <input type="checkbox"/> | Superficie agrietada    |
| <input type="checkbox"/> | Corteza Dorada       | <input type="checkbox"/> | Sabor a pan             |
| <input type="checkbox"/> | Corteza Crujiente    | <input type="checkbox"/> | Falta sal               |
| <input type="checkbox"/> | Corteza muy clara    |                          |                         |

**Finalizando con ambas muestras ¿cuál de las dos prefiere? Marque solo una alternativa.**

- |                            |                          |
|----------------------------|--------------------------|
| La que probé primero (560) | <input type="checkbox"/> |
| La que probé segunda (613) | <input type="checkbox"/> |
| Cualquiera de las dos      | <input type="checkbox"/> |

**¿Por qué prefirió la muestra que marcó como preferida? Por favor sea lo más explícito posible.**

---

---

---

**MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

**Anexo 9:** Tablas resultados para análisis de aceptabilidad, mediante ANOVA multifactorial.

**Anexo 9.1:** Evaluación de los atributos de agrado en escala hedónica.

Atributo	HSP 2	HSP	Valor p-muestras	Valor p-Consumidores
Forma	5,86 <sup>a</sup>	5,49 <sup>b</sup>	0,041	0,01
Sabor	5,65	5,68	0,91	0,11
Textura	5,67	5,70	0,90	0,01

Superíndices a y b indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las muestras para cada atributo. Resultados en base a una escala hedónica de 7 puntos. Donde HH: Harina Hallulla; HSP: Harina Super Pan; HSP 2: Harina Super Pan 2.

**Anexo 9.2:** Pruebas de Múltiple Rangos para forma de las muestras

**Análisis de Varianza para Forma - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Muestras	2,64865	1	2,64865	4,47	0,0416
B:Consumidores	50,2162	36	1,39489	2,35	0,0060
<b>RESIDUOS</b>	21,3514	36	0,593093		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	74,2162	73			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

**El StatAdvisor**

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Forma en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre Forma con un 95,0% de nivel de confianza.

**Anexo 9.3:** Pruebas de Múltiple Rangos para sabor de las muestras

**Análisis de Varianza para Sabor - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Muestras	0,0135135	1	0,0135135	0,01	0,9111
B:Consumidores	58,0541	36	1,61261	1,51	0,1112
<b>RESIDUOS</b>	38,4865	36	1,06907		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	96,5541	73			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

**El StatAdvisor**

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Sabor en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que ningún valor-P es menor que 0,05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Sabor con un 95,0% de nivel de confianza.

## **Anexo 9.4:** Pruebas de Múltiple Rangos para textura general de las muestras

### **Análisis de Varianza para Textura general - Suma de Cuadrados Tipo III**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Muestras	0,0135135	1	0,0135135	0,02	0,8985
B:Consumidores	68,3514	36	1,89865	2,32	0,0068
RESIDUOS	29,4865	36	0,819069		
TOTAL (CORREGIDO)	97,8514	73			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

#### **El StatAdvisor**

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Textura general en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Textura general con un 95,0% de nivel de confianza.

## **Anexo 10:** Cuantificación de HMF en triplicado para las muestras de marraqueta elaboradas con harina con distinto contenido proteico.

<b>Muestra de harina</b>	<b>Cantidad de HMF mg/Kg</b>
<b>HH</b>	26,1
	24,9
<b>HSP</b>	15,1
	16,1
<b>HSP2</b>	19,3
	19,0

Donde HH: Harina Hallulla; HSP: Harina Super Pan; HSP 2: Harina Super Pan 2.



**Anexo 11:** Cuantificación de AA en triplicado para las muestras de marraqueta elaboradas con harina con distinto contenido proteico.

<b>Muestra de harina</b>	<b>Cantidad de AA ug/Kg</b>
<b>HH</b>	102
	99
	87
<b>HSP</b>	56
	58
	53
<b>HSP 2</b>	95
	95
	95

Donde HH: Harina Hallulla; HSP: Harina Super Pan; HSP 2: Harina Super Pan 2.

**Anexo 12:** Tabla de mínimos juicios correctos, para dos colas.

<b>Numero de Juicios</b>	<b>Nivel de Probabilidad</b>		
	5%	1%	0,1%
37	25	27	29

**Anexo 13:** Atributos obtenidos de la preferencia de los consumidores hacia cada muestra de marraqueta.

<b>Atributo</b>	<b>HSP (N=16)</b>	<b>HSP 2 (N=17)</b>
<b>APARIENCIA</b>		
Corteza más tostada	13%	35%
Mejor apariencia	0%	18%
Similar a marraqueta	6	0
Corteza poco tostada	6	25
Color agradable	0	6
<b>AROMA</b>		
Característico	0% <sup>b</sup>	24% <sup>a</sup>
Menos intenso	0%	12%
Bueno/agradable	6	6
Aroma alto/intenso a pan	6	0
Mejor aroma	0	6
Aroma tostado	0	6
<b>SABOR</b>		
Agradable/bueno	25%	24%
Sabor a pan tradicional/convencional	0%	18%
Sabor a marraqueta	13%	18%
Menos sabor a levadura	6%	12%
Más salado	6%	12%
Mejor Sabor	25%	12%
Sabor equilibrado	6%	12%
Sabor más intenso/más sabor	31% <sup>b</sup>	0% <sup>a</sup>
Menos ácido	6	0
Menos salado	6	6
Insípido	6	0
Sabor tostado	0	19
Sin sabor a levadura	0	6
Rico sabor a levadura	0	6
<b>TEXTURA</b>		
Miga más esponjosa	19%	24%
Agradable	6%	18%
Mas crujiente	25%	12%
Mejor textura	6	6
Dureza justa	6	0
Crujencia justa/agradable	6	0
Mejor textura de la miga	0	6
Miga compacta	0	6
<b>OTROS</b>		

Parecido al que como siempre	6	0
Se podría comer sin nada	6	0
Mayor esencia a lo que es una marraqueta	0	6
Más fresca	0	6

Superíndices a y b indican diferencias significativas al 5% entre las muestras. Donde HH: Harina Hallulla; HSP: Harina Super Pan; HSP: Harina Super Pan 2.